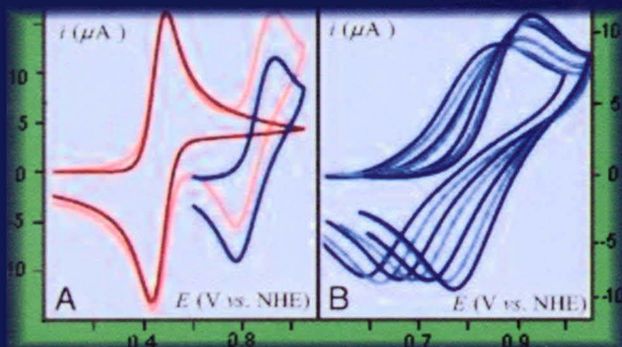
ANDREI FLORIN DĂNEȚ

ANALIZĂ INSTRUMENTALĂ

partea I







Editura Universității din București

ANDREI FLORIN DĂNEȚ

ANALIZĂ INSTRUMENTALĂ

PARTEA I-a



editura universității din bucurești®

2010

Cuprins

Capitolul 1 - Metode spectrometrice de analiză 7
1.1. INTRODUCERE ÎN SPECTROMETRIA DE EMISIE ŞI ABSORBŢIE 7
1.1.1. Natura radiaţiei electromagnetice. Spectrul electromagnetic 7
1.1.2. Tipuri de interacţii ale radiaţiei electromagnetice şi corpusculare cu proba de analizat 9
1.1.3. Emisia şi absorbţia atomică a radiaţiei 13
1.1.3.1. Emisia şi absorbţia atomică a radiaţiei în domeniul ultraviolet şi vizibil 13
1.1.3.2. Emisia şi absorbţia razelor X 15
1.1.4. Absorbţia, emisia şi difuzia moleculară a radiaţiei 18
1.1.4.1. Absorbţia radiaţiei de către molecule 18
1.1.4.1.a. Tranziţii electronice moleculare 19
1.1.4.1.b. Tranziţii de vibraţie moleculară 22
1.1.4.2. Emisia radiaţiei de către molecule 24
1.1.4.3. Difuzia radiaţiei, efectul Raman 28
1.2. APARATURA UTILIZATĂ ÎN SPECTROMETRIA DE ABSORBŢIE ÎN DOMENIILE ULTRAVIOLET, VIZIBIL ŞI INFRAROŞU 31
1.2.1. Schema generală a unui spectrometru 31
1.2.2. Surse de radiaţii 33
1.2.3. Sisteme de separare a radiaţiilor în funcţie de lungimea de undă 34
1.2.4. Detectori de radiaţii 38
1.2.5. Sisteme de evaluare 40
1.3. SPECTROMETRIA DE EMISIE ATOMICĂ ÎN ARC, SCÂNTEIE ELECTRICĂ ŞI PLASMĂ 43
1.3.1. Principiul aparaturii 43
1.3.2. Analiza calitativă şi semicantitativă 49
1.3.3. Analiza cantitativă 51
1.4. SPECTROMETRIA DE EMISIE ÎN FLACĂRĂ 53
1.4.1. Flacăra ca sistem de atomizare şi excitare 53
1.4.2. Principiul aparaturii 57

1.4.3. Analiza cantitativă 58
1.5. SPECTROMETRIA DE ABSORBŢIE ATOMICĂ 59
1.5.1. Absorbţia radiaţiilor de către atomi 60
1.5.2. Principiul aparaturii 63
1.5.3. Analiza cantitativă 65
1.6. SPECTROMETRIA DE RAZE X 67
1.6.1. Principiul aparaturii 68
1.6.2. Metode directe de analiză cu raze X 71
1.6.3. Analiza prin fluorescenţă de raze X 72
1.7. METODE SPECTROMETRICE DE ABSORBŢIE MOLECULARĂ ÎN DOMENIUL VIZIBIL ŞI ULTRAVIOLET 74
1.7.1. Legea fundamentală a absorbţiei radiaţiei 74
1.7.2. Eroarea fotometrică. Condiţii pentru o eroare minimă la determinarea absorbanţei 79
1.7.3. Corelarea spectrelor electronice de absorbţie cu structura moleculară 82
1.7.4. Analiza cantitativă 87
1.7.5. Titrări spectrometrice 89
1.8. SPECTROMETRIA DE FLUORESCENŢĂ ŞI FOSFORESCENŢĂ MOLECULARĂ 90
1.8.1. Relaţia între intensitatea radiaţiei de fluorescenţă (sau fosforescenţă) şi concentraţie 91
1.8.2. Principiul aparaturii 92
1.8.3. Factorii structurali care determină fluorescenţa 93
1.8.4. Analiza cantitativă 93
1.9. SPECTROMETRIA DE ABSORBŢIE ÎN INFRAROŞU ŞI RAMAN 99
1.9.1. Pregătirea probelor în vederea înregistrării spectrului în IR 99
1.9.2. Corelarea spectrelor în IR cu structura moleculară 101
1.9.3. Spectrometria Raman 104
1.10. SPECTROMETRIA DE MASĂ 109
1.10.1. Principiul aparaturii utilizate în spectrometria de masă 110
1.10.1.1. Metode de ionizare 110
1.10.1.2. Metode de separare a ionilor. Analizorul de ioni 117

1.10.1.3. Detectorul de ioni. Schema unui spectrometru de masă. Rezoluţia 124
1.10.2. Spectrul de masă, aplicaţii analitice 125
1.10.3. Cuplarea cromatografiei cu spectrometria de masă 133
1.11. SPECTROMETRIA DE REZONANŢĂ MAGNETICĂ NUCLEARĂ 135
1.11.1. Proprietăţile magnetice ale nucleului 135
1.11.2. Interacţiunea momentului de spin al nucleului cu un câmp magnetic 137
1.11.3. Principiul aparaturii RMN 142
1.11.4. Poziţia semnalelor în spectrul RMN. Deplasarea chimică 144
1.11.5. Cuplarea spin-spin 151
1.11.6. Spectrometria RMN cu iradiere în pulsuri şi transformată Fourier 155
BIBLIOGRAFIE 157
RESURSE INTERNET ÎN DOMENIUL METODELOR SPECTROMETRICE DE ANALIZĂ 158
Capitolul 2 - Metode electroanalitice 161
2.1. INTRODUCERE ÎN METODELE ELECTROANALITICE 1
2.1.1. Electrozi utilizaţi în celulele electrochimice 162
2.1.2. Celule electrochimice 164
2.1.2.1. Energia liberă şi forţa electromotoare a unei celule electrochimice 168
2.1.2.2. Efectul concentraţiilor asupra forţei electromotoare a unei celule. Ecuaţia Nernst 169
2.1.3. Potenţialul de electrod 170
2.1.3.1. Potenţialul standard de electrod 172
2.1.3.2. Potenţialele de electrod în prezenţa unor reactivi de precipitare sau de complexare 173
2.1.3.3. Limitări în utilizarea potenţialelor standard de electrod 175
2.1.4. Potenţiale de joncţiune lichidă 177
2.1.5. Efectul curentului asupra forţei electromotoare a unei celule. Cinetica proceselor de electrod. Curbe curent-potenţial 178
2.1.5.1. Căderea de potenţial datorită rezistenţei ohmice a celulei electrochimice 179
2.1.5.2. Polarizarea electrozilor 179

2.1.5.3. Cinetica transferului de sarcină la electrozi 182
2.1.5.4 Curbele curent-potenţial pentru o concentraţie constantă a speciilor care participă la reacţia de electrod. Limitarea curentului datorită transferului de sarcină 185
2.1.5.5. Curbele curent-potenţial pentru concentraţii variabile ale speciilor care participă la reacţia electrod. Limitarea curentului datorită transferului de masă 187
2.1.5.5.a. Forma curbelor curent-potenţial (voltamograme) pentru curenţii de difuzie 190
2.1.5.5.b. Ecuaţiile curbelor curent-potenţial pentru curenţii de difuzie 192
2.1.6. Clasificarea metodelor electroanalitice 195
2.2. METODE POTENŢIOMETRICE DE ANALIZĂ 198
2.2.1 Metode potenţiometrice directe 198
2.2.1.1. Electrozi de speţa I-a 198
2.2.1.2. Electrozi de speţa a II-a 202
2.2.1.3. Electrozi de speţa a III-a 204
2.2.1.4. Electrozi redox 205
2.2.1.5. Electrozi cu membrană 206
2.2.1.5.a. Clasificarea electrozilor cu membrană 206
2.2.1.5.b. Celule electrochimice folosite la efectuarea de determinări cu electrozi ion-selectivi cu membrană. Coeficientul de selectivitate al elec-trozilor ion-selectivi 208
2.2.1.5.c. Electrozi ion-selectivi cu membrană solidă 211
2.1.5.5.d. Electrozi cu membrană lichidă şi polimerică 216
2.2.1.5.e. Electrozi cu membrană sensibili pentru gaze 220
2.2.1.6. Electrozi cu semiconductori 222
2.2.1.6.a. Tranzistori cu efect de câmp sensibili chimic 227
2.2.1.7. Electrozi chimic modificaţi 232
2.2.1.8. Biosenzori potenţiometrici 238
2.2.1.9. Microelectrozi ion-selectivi şi determinări potenţiometrice in vivo 243
2.2.1.10. Practica determinării potenţiometrice directe 245
2.2.1.10.a. Determinarea potenţiometrică a pH-ului cu electrodul de sticlă 247
2.2.2. Titrări potenţiometrice 252
2.2.2.1. Deducerea formei curbelor de titrare potenţiometrică cu ajutorul curbelor curent-potenţial (voltamograme) 253
2.2.2.2. Titratoare potenţiometrice automate 258

2.3. METODE CONDUCTOMETRICE DE ANALIZĂ 260
2.3.1. Conductanţa electrolitică 260
2.3.2. Practica determinărilor conductometrice 263
2.3.3. Titrări conductometrice 266
2.4. METODE VOLTAMETRICE ŞI POLAROGRAFICE DE ANALIZĂ 270
2.4.1. Componente ale celulelor electrochimice şi aparatura utilizată în voltametrie 271
2.4.2. Polarografia convenţională (în curent continuu) 278
2.4.2.1. Principii ale polarografiei convenţionale 278
2.4.2.2. Aspecte teoretice privind polarografia convenţională 280
2.4.2.3. Ecuaţiile undelor polarografice 284
2.4.2.4. Curentul rezidual în polarografie 287
2.4.2.5. Maximele curenţilor polarografici 290
2.4.2.6. Curenţi catalitici ai hidrogenului 292
2.4.2.7. Curenţi limită datorită unor procese de suprafaţă 293
2.4.2.8. Efectul reacţiilor chimice 295
2.4.2.9. Efectul cineticii transferului de sarcină la electrod 297
2.4.2.10. Aspecte ale practicii polarografiei convenţionale 298
2.4.3. Metode polarografice avansate (neconvenţionale) 303
2.4.3.1. Metode polarografice avansate, în curent continuu 306
2.4.3.1.a. Polarografia rapidă în curent continuu 306
2.4.3.1.b. Tast-polarografia (polarografia cu măsurarea intermitentă a curentului) 306
2.4.3.1.c. Polarografia substractivă în curent continuu 308
2.4.3.1.d. Polarografia derivată în curent continuu 308
2.4.3.1.e. Polarografia cu baleiaj liniar, rapid de potenţial 309
2.4.3.1.f. Polarografia cu pulsuri (pulspolarografia) 311
2.4.3.2. Metode polarografice în curent alternativ 319
2.4.3.2.a. Polarografia în curent alternativ sinusoidal 319
2.4.3.2.b. Polarografia în curent alternativ cu unde pătrate 325
2.4.3.2.c. Polarografia oscilografică în curent alternativ 328
2.4.4. Voltametrie hidrodinamică 331
2.4.4.1. Voltametria hidrodinamică cu electrozi rotitori 332
2.4.4.2. Voltametrie cu alţi electrozi hidrodinamici 334
2.4.4.3. Electrodul de oxigen 335
2.4.4.4. Biosenzori amperometrici 337
2.4.4.5. Titrări amperometrice 339
2.4.5. Voltametrie în soluţie staţionară 342
2.4.5.1. Voltametria ciclică 343

2.4.5.2. Voltametrie cu trepte de potenţial 348
2.4.5.3. Voltametria cu pulsuri de potenţial 351
2.4.5.4. Cronopotenţiometrie 353
2.4.5.5. Voltametrie de stripping (cu redizolvare) 358
2.5. METODE COULOMETRICE DE ANALIZĂ 364
2.5.1. Relaţii de bază în coulometrie 365
2.5.2. Metode coulometrice la potenţial controlat 367
2.5.3. Metode coulometrice la curent constant 369
BIBLIOGRAFIE 372
RESURSE INTERNET ÎN DOMENIUL METODELOR ELECTROANALITICE 373
BIBLIOGRAFIE GENERALĂ 374
RESURSE INTERNET ÎN NUMEROASE DOMENII ALE CHIMIEI ANALITICE 376

Capitolul 1

Metode spectrometrice de analiză

1.1. INTRODUCERE ÎN SPECTROMETRIA DE EMISIE ŞI ABSORBŢIE

1.1.1. Natura radiaţiei electromagnetice. Spectrul electromagnetic.

Radiaţia electromagnetică este o formă de energie radiantă care prezintă proprietăţi atât de undă cât şi de particulă. Deşi undele şi particulele par să fie incompatibile, natura radiaţiei electromagnetice, ca şi comportarea electronilor, nu poate fi explicată decât pe baza dualităţii "*particulă-undă*".

Proprietăţi de undă. După cum se vede din fig. 1.1, o undă electromagnetică are o componentă electrică şi una magnetică. Cele două componente oscilează în planuri perpendiculare unul faţă de altul şi faţă de direcţia de propagare a radiaţiei.

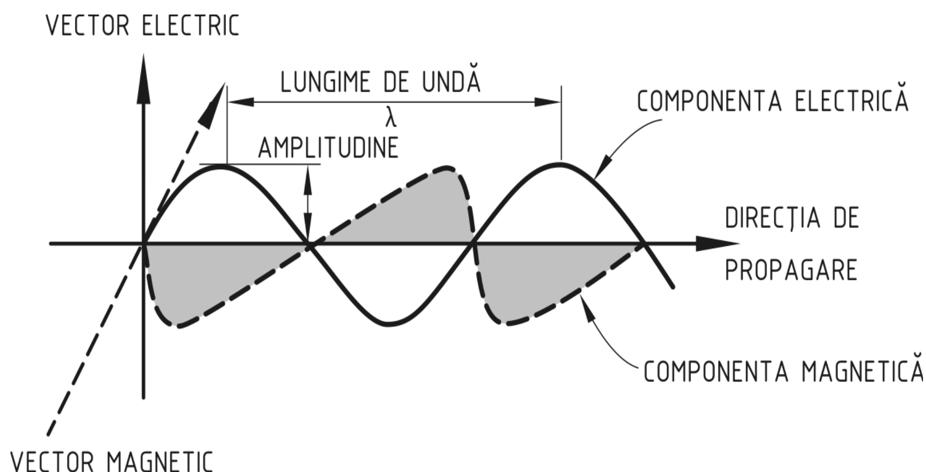


Fig. 1.1. O undă electromagnetică.

O undă electromagnetică este caracterizată de lungimea de undă şi de frecvenţă. Lungimea de undă este distanţa dintre două puncte corespunzătoare de pe curbă (fig. 1.1). Frecvenţa, ν, reprezintă numărul de unităţi de lungimi de undă

care trec printr-un anumit punct, în unitatea de timp. Frecvenţa se exprimă în hertzi (Hz), cicli pe secundă sau s^{-1}. Lungimea de undă şi frecvenţa sunt raportate la viteza luminii prin relaţia:

$$\lambda\nu = c/n \qquad (1.1)$$

unde *c* este viteza luminii în vid (2,9976 10^{10} cm/s) şi *n* este indicele de refracţie (raportul vitezei luminii în vid şi al vitezei sale în mediul respectiv). În unele cazuri este mai avantajos de a folosi numărul de undă, $\tilde{\nu}$, care reprezintă numărul de lungimi de undă pe 1 cm. Se exprimă în cm^{-1}.

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu n}{c} \qquad (1.2)$$

Intensitatea undei electromagnetice, *I*, reprezintă energia care trece prin unitatea de suprafaţă în unitatea de timp şi este dată de relaţia:

$$I = \frac{A^2 c}{8\pi} \qquad (1.3)$$

unde *A* este amplitudinea undei electromagnetice.

Proprietăţi de particulă. Pentru a descrie modul în care interacţionează radiaţia electromagnetică cu materia, este util de a imagina fasciculul de radiaţii ca o succesiune de fotoni (un tren de fotoni). Energia fiecărui foton este proporţională cu frecvenţa radiaţiei şi este dată de relaţia:

$$E = h\nu = hc / n\lambda \qquad (1.4)$$

unde *E* este energia fotonului în ergi, ν este frecvenţa radiaţiei electromagnetice în hertzi, *h* este constanta lui Planck, 6,624 10^{-27} erg·s şi *n* este indicele de refracţie al mediului.

Spectrul electromagnetic

Radiaţiile electromagnetice care sunt de interes pentru chimie variază de la radiaţiile γ care au energie foarte mare, la undele radio ce au energie foarte mică. Prin spectru electromagnetic se înţeleg radiaţiile de toate lungimile de undă cuprinse în acest interval.

În tabelul 1.1 se prezintă, în funcţie de lungimile de undă, frecvenţe şi energie, radiaţiile ce constituie spectrul electromagnetic, tipurile de tranziţii ce pot avea loc şi metodele de analiză corespunzătoare. Diferitele regiuni ale spectrului constituie domeniile spectrale, pentru fiecare domeniu utilizându-se un anumit tip

de aparat pentru a genera sau detecta radiaţii, de exemplu: infraroşu, raze X, vizibil etc. Între domeniile spectrale nu sunt limite nete, ci limite difuze, fiind, de fapt, o întrepătrundere a acestora. Fiecărui domeniu spectral îi corespund interacţii specifice ale radiaţiei cu proba de analizat.

1.1.2. Tipuri de interacţii ale radiaţiei electromagnetice şi corpusculare cu proba de analizat

Interacţiile radiaţiei electromagnetice şi corpusculare cu proba de analizat pot fi neelastice şi elastice (cvasielastice).

În cazul interacţiilor elastice, spre deosebire de cele neelastice, nu are loc o transformare de energie mecanică în alte forme de energie.

Interacţii neelastice. Interacţiile neelastice stau la baza celor mai multe metode de analiză în care au loc interacţii ale radiaţiei electromagnetice şi corpusculare cu proba de analizat. Prin interacţii neelastice are loc un schimb de energie bine definit între radiaţie şi particulele din probă (atomi, ioni, molecule) care poate fi descris pe baza legilor mecanicii cuantice. La efectuarea analizei se obţin semnale corespunzătoare unor tranziţii între anumite stări energetice, care, ordonate în funcţie de energie (λ sau ν), ne dau spectrul probei de analizat. În domeniul de energii larg care reprezintă spectrul electromagnetic, vor apărea anumite discontinuităţi caracteristice.

Spectrele pot fi de emisie sau de absorbţie. Spectrele de emisie se obţin în urma trecerii particulelor probei în stări cu energie mai mare (stări excitate), de exemplu, prin excitare termică, după care revin la starea cu energie mai mică, starea fundamentală, prin emisie de radiaţii. Spectrele de absorbţie se obţin la iradierea probei cu radiaţii a căror frecvenţă (sau λ) variază continuu, din care vor fi absorbite anumite porţiuni caracteristice, în urma trecerii particulelor respective în stări excitate. Pentru aceeaşi probă, spectrele de emisie şi absorbţie sunt unul faţă de altul ca imaginea pozitivă şi cea negativă din fotografie.

În tabelul 1.1 se prezintă alături de domeniile spectrului electromagnetic, tipuri de tranziţii energetice ce pot avea loc şi metodele de analiză corespunzătoare. Toate aceste metode poartă numele general de metode spectrometrice de analiză.

Spectrele conţin codificat informaţia analitică furnizându-ne atât date calitative cât şi cantitative pe baza tranziţiilor între diferitele stări energetice ale atomilor, ionilor sau moleculelor.

Frecvenţele, respectiv lungimile de undă ale semnalelor înregistrate sunt caracteristice pentru natura probei sau a elementelor sale structurale, în timp ce intensităţile corespunzătoare ne dau informaţii cantitative. Informaţii structurale calitative pot fi date şi de întregul spectru care, în raport cu natura probei studiate poate fi frecvent considerat ca o amprentă a acesteia.

Tabelul 1.1.

Domeniile spectrului electromagnetic, tipuri de tranziţii ce pot avea loc şi metodele de analiză corespunzătoare [22].

λ		1m		1cm				1μm				1nm	1Å			
log λ (m)	1	0	−1	−2	−3	−4	−5	−6	−7	−8	−9	−10	−11	−12	−13	
log $\bar{\nu}$ (cm^{-1})		−2	−1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
log ν (s^{-1})	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
log E [eV]	−6	−5	−4	−3	−2	−1	0	1	2	3	4	5	6	7		
log E [kcal·mol^{-1}]	−4	−3	−2	−1	0	1	2	3	4	5	6	7	8			

DOMENII SPECTRALE	UNDE RADIO; MICROUNDE; INFRAROŞU; SPECTRU VIZIBIL; ULTRA-VIOLET; RADIAŢII X, FASCICULE DE ELECTRONI, IONI ŞI NEUTRONI; RADIAŢII GAMA
TIPURI DE TRANZIŢII ŞI INTERACŢII	TRANZIŢII ALE UNOR DIPOLI MAGNETICI ŞI ALE UNOR VECTORI ELECTRICI; ROTAŢII MOLECULARE; VIBRAŢII MOLECULARE; EXCITAREA ELECTRONILOR DE VALENŢĂ; EXCITAREA ELECTRONILOR INTERNI; EXCITARE NUCLEARĂ; MODIFICĂRI ÎN STRUCTURA NUCLEULUI
METODĂ SPECTROMETRICĂ	SPECTROMETRIA DE REZONANŢĂ MAGNETICĂ NUCLEARĂ; SPECTROMETRIA DE REZONANŢĂ ELECTRONICĂ DE SPIN; SPECTROMETRIE DE MICROUNDE; SPECTROMETRIE ÎN INFRAROŞU; SPECTROMETRIE DE EMISIE ŞI ABSORBŢIE ATOMICĂ; SPECTROMETRIE ÎN ULTRAVIOLET ŞI VIZIBIL; SPECTROMETRIE DE RAZE "X"; SPECTROMETRIE FOTOELECTRONICĂ; SPECTROMETRIE CU ELECTRONI "AUGER"; SPECTROMETRIE "MOSSBAUER"; ANALIZĂ PRIN ACTIVARE

Forma semnalului spectrometric

În mod obişnuit, acesta are forma unei funcţii de tip Gause sau Lorentz (fig. 1.2). Lăţimea semnalului ar trebui să tindă spre zero. În realitate, s-au observat anumite lăţiri ale benzilor, lăţiri care, uneori, pot să ia valori considerabile.

Mai întâi, fiecare linie spectrală are o anumită lăţime care poate fi explicată cu ajutorul principiului de incertitudine al lui Heisenberg, conform căruia determinarea simultană a energiei unei tranziţii cuantice şi a timpului necesar transmiterii energiei nu poate fi cunoscută mai exact de h/2π. Se poate scrie:

$$\delta E \delta\tau \geq \frac{h}{2\pi} \quad (1.5)$$

unde δE este variaţia de energie între două stări, iar $\delta\tau$ este durata de viaţă a stării excitate. Aceasta determină o lăţire naturală a liniei spectrale, dată de relaţia:

$$\delta\nu_N \geq \frac{1}{2\pi\delta\tau} \quad (1.6)$$

Lăţirea va fi cu atât mai mare cu cât $\delta\tau$ va fi mai mic. Lăţirea naturală în cazul gazelor va fi dependentă de presiune. Liniile spectrale vor fi cu atât mai înguste cu cât presiunea este mai mică, datorită reducerii numărului de ciocniri. Ciocnirile reduc durata de viaţă a stării excitate, ceea ce determină o lăţire a liniilor spectrale.

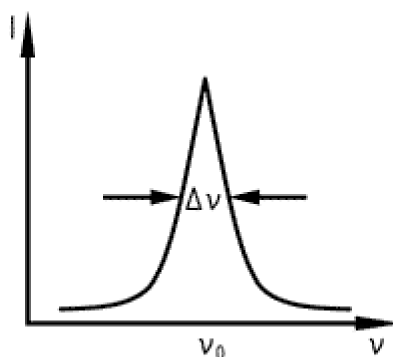


Fig. 1.2. Profilul unei linii spectrale

Alţi factori importanţi care determină lăţirea liniilor spectrale sunt:

- viteza relativă de mişcare a particulei, v, în raport cu radiaţia emisă, ceea ce determină o lăţire prin efect Doppler:

$$\delta\nu_D = \nu\frac{v}{c} = \frac{\nu}{c}\sqrt{\frac{3kT}{m}} \qquad (1.7)$$

unde *m* este masa particulei.

- lăţirea datorită structurii fine nerezolvate $\delta\nu_F$
- lăţirea datorită aparatului întrebuinţat, în primul rând a monocromatorul şi a sistemul de înregistrare, $\delta\nu_A$

Lăţimea unei linii spectrale observate experimental va fi deci dată de relaţia:

$$\delta\nu_{exp.} = \delta\nu_N + \delta\nu_D + \delta\nu_F + \delta\nu_A \qquad (1.8)$$

Intensitatea unei linii spectrale depinde de densităţile de ocupare ale nivelurilor de energie considerate (de "populaţiile" nivelurilor respective) şi de probabilitatea tranziţiilor între ele. Probabilitatea tranziţiilor este dată de regulile de selecţie. Raportul densităţilor de ocupare ale nivelurilor energetice este dat de o repartiţie de tip Boltzmann:

$$\frac{N_1}{N_0} = \frac{g_1}{g_0} exp\left(-\frac{E_1 - E_0}{kT}\right) \qquad (1.9)$$

unde:

N_1 şi N_0 sunt numărul de particule din stările energetice E_1 respectiv E_0, la temperatura T; g_1 şi g_0 reprezintă ponderile statistice ale nivelurilor respective; k este constanta lui Boltzmann. Pentru stările energetice nedegenerate, $g_1/g_0 = 1$.

Raportul densităţilor de ocupare a unor niveluri energetice pentru o anumită temperatură va fi influenţat de diferenţa $\Delta E = E_1 - E_0$, între energiile corespunzătoare acestora. La temperatură obişnuită starea fundamentală (starea cu energia cea mai mică) este în general mult mai populată decât celelalte stări energetice.

Interacţii elastice (cvasielastice)

În urma interacţiilor elastice ale radiaţiei electromagnetice şi corpusculare cu particulele probei de analizat, nu au loc modificări ale energiei cinetice a radiaţiei şi deci a frecvenţei sale, ci numai o schimbare a direcţiei de propagare, care este funcţie de natura probei. Energia internă şi structura probei nu se modifică în urma acestor interacţii. Interacţiile elastice pot fi descrise pe baza proprietăţilor de undă ale radiaţiei electromagnetice. Din interacţiile elastice fac parte reflexia, refracţia, difuzia, difracţia etc.

În tabelul 1.2 sunt date unele interacţii elastice ce pot avea loc între radiaţia electromagnetică şi corpusculară şi particulele probei de analizat şi metodele de analiză corespunzătoare:

Tabelul 1.2. Interacţii elastice şi metodele de analiză corespunzătoare.

Radiaţia electromagnetică sau corpusculară	Metode de analiză
Radiaţii din domeniul vizibil	Microscopie optică Refractometrie Nefelometrie Turbidimetrie Polarimetrie
Radiaţii X	Difracţia razelor X
Electroni	Difracţia electronilor *Microscopie electronică
Ioni	Reflexia ionilor *Microscopie ionică
Neutroni	Difracţia neutronilor

*Microscopia electronică şi ionică se bazează pe interacţii cvasielastice ale particulelor probei cu fascicule de electroni sau ioni.

Metodele de analiză bazate pe interacţii elastice ale radiaţiei cu proba de analizat nu fac parte din cadrul metodelor spectrometrice de analiză, neavând loc practic un schimb de energie între acestea.

1.1.3. Emisia şi absorbţia atomică a radiaţiei

1.1.3.1. Emisia şi absorbţia atomică a radiaţiei în domeniul ultraviolet şi vizibil

Emisia şi absorbţia radiaţiei de către atomi în domeniul ultraviolet (abreviat UV) şi vizibil se datorează unor tranziţii între stări energetice ale electronilor periferici. Energia radiaţiilor emise sau absorbite are valori discrete. Frecvenţa acestor radiaţii este funcţie de diferenţa, ΔE, între stările energetice între care are loc tranziţia:

$$\Delta E = h\nu = h\frac{c}{\lambda} = hc\tilde{\nu} \qquad (1.10)$$

unde:

c este viteza luminii (în vid ~ $3 \cdot 10^{10}$ cm/s) şi $\tilde{\nu}$, este numărul de undă exprimat în cm^{-1}.

Fiecare tranziţie corespunde unei anumite linii spectrale atât pentru absorbţie cât şi pentru emisie.

Mişcarea unui electron în jurul nucleului şi în jurul axei sale este caracterizată prin cele patru numere cuantice: *n*, *1*, *m* şi *s*; *n*, număr cuantic principal, *1*, număr cuantic secundar, *m*, număr cuantic magnetic şi *s*, număr cuantic de spin. Se mai foloseşte şi numărul cuantic intern, $j = 1 \pm s$, care nu are un caracter de sine stătător.

La atomii cu mai mulţi electroni în învelişul exterior are loc o însumare vectorială a momentelor cinetice orbitale şi de spin. Aceasta datorită interacţiei spin-orbită şi interacţiei dintre electroni. Starea energetică a atomului va fi caracterizată prin numerele cuantice totale *L, S* şi *J*. *L* este numărul cuantic secundar total rezultând din însumarea numerelor cuantice care caracterizează momentele cinetice orbitale ale electronilor şi corespunde momentului cinetic orbital total al atomului. *S*, numărul cuantic de spin total, se obţine prin însumarea algebrică a spinilor tuturor electronilor şi corespunde momentului cinetic de spin total al atomului. *J* este dat de $L \pm S$ şi reprezintă numărul cuantic intern total, corespunzând momentului cinetic total al atomului. Diferitele valori ale lui *J* vor determina scindarea nivelurilor energetice ale atomului; aceste niveluri, ce au energii diferite, se numesc termeni spectrali.

Regulile de selecţie ne dau posibilităţile tranziţiilor electronice, ele nu au caracter absolut, ci ne indică tranziţiile care au loc cel mai probabil şi deci vor da naştere liniilor celor mai intense. Regulile de selecţie sunt:

$\Delta L = \pm 1$ şi $\Delta J = 0, \pm 1$ (tranziţia 0 ↔ 0' interzisă)

În diagramele Grotrian sunt prezentate schematic nivelurile energetice ale unui atom şi tranziţiile electronice ce pot avea loc.

În fig. 1.3 este prezentată mult simplificat diagrama Grotrian pentru magneziu. Pe verticală este reprezentată energia. Nivelurile energetice sunt figurate sub forma unor linii orizontale. În partea superioară sunt trecute simbolurile prin care sunt notate stările energetice ale termenilor spectrali. Literele *S*, *P* şi *D* corespund lui $L = 0$, 1 şi 2. În partea din stânga sus a literelor este trecută valoarea $2S + 1$ numită multiplicitatea liniei spectrale, iar în dreapta jos valoarea lui *J*. Emisia unei linii spectrale se datorează unei tranziţii de la un nivel de energie mai mare la unul cu energie mai mică. Absorbţia reprezintă fenomenul invers.

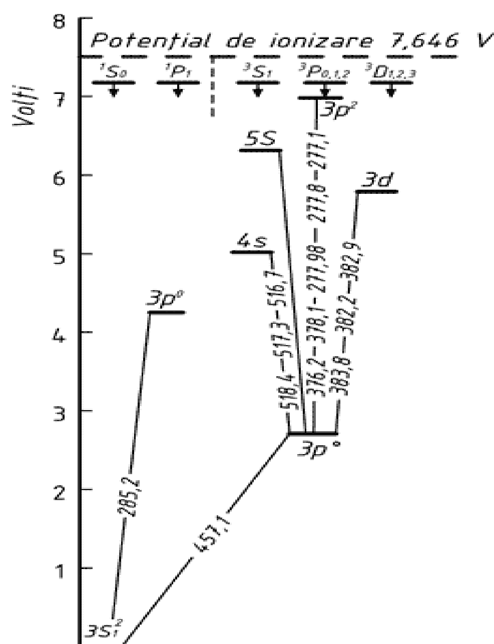


Fig. 1.3. Diagrama Grotrian pentru magneziu. Lungimile de undă ale radiaţiilor emise sau absorbite sunt date în nm.

Liniile spectrale pentru care unul din nivelurile energetice este starea fundamentală se numesc linii de rezonanţă. Din punct de vedere analitic, de mare importanţă sunt liniile de rezonanţă ce apar în urma tranziţiilor între starea fundamentală şi primul nivel excitat, ele fiind, în general, cele mai intense. Pentru excitarea liniilor de rezonanţă este nevoie de o energie destul de mare, astfel că numai puţini atomi ce au electroni de valenţă labili pot emite sau absorbi în domeniul vizibil, cum este cazul metalelor alcaline.

Pentru majoritatea metalelor este însă nevoie de o energie mai mare pentru a excita liniile de rezonanţă, linii caracteristice unor energii ce corespund domeniului UV al spectrului. Pentru metale este nevoie de energii şi mai mari, corespunzând domeniului UV de vid, $\lambda < 200$ nm, domeniu spectral mai greu accesibil. Din acest motiv, spectrometria de emisie sau absorbţie atomică se aplică în special pentru analiza elementelor cu caracter metalic.

Numărul de linii spectrale pentru un element depinde de numărul tranziţiilor electronice, care evident este dat de numărul şi aşezarea electronilor periferici (de valenţă). Atomii cu un număr redus de electroni periferici, de exemplu metalele alcaline, prezintă spectre cu un număr redus de linii, elementele cu structură complexă a învelişului de electroni exterior, de exemplu metalele tranziţionale, vor prezenta spectre bogate în linii.

Un atom nu poate absorbi decât radiaţiile pe care, în anumite condiţii, le poate emite. Emisia atomică se datorează atomilor aflaţi în stare excitată. Aceştia, prin revenire la stări cu energie mai mică, emit radiaţii caracteristice. Aceleaşi radiaţii pot fi absorbite de către aceleaşi specii atomice aflate în stări cu energie

mai mică, acestea trecând astfel în stări excitate.

Emisia atomică în vizibil şi UV stă la baza spectrometriei de emisie în flacără şi plasmă, precum şi la baza spectrometriei de emisie în arc şi scânteie electrică, iar absorbţia radiaţiei stă la baza spectrometriei de absorbţie atomică.

1.1.3.2. Emisia şi absorbţia razelor X

Razele X se obţin în urma unor interacţii neelastice între atomi şi fascicule de particule (de obicei electroni) sau radiaţii (eventual tot raze X) care au o energie mai mare decât cea necesară expulzării unor electroni din straturile interne ale atomilor. Locurile rămase libere sunt apoi ocupate de electroni mai îndepărtaţi de nucleu. Aceste tranziţii sunt însoţite de emisie de raze X, ce au o energie, $\Delta E = h\nu$, reprezentând diferenţa între cele două niveluri energetice ale electronilor. La emisia de raze X variază în primul rând numărul cuantic principal. Lungimile de undă ale acestor radiaţii sunt cuprinse între 0,01 şi 10 nm.

Spectrele de raze X ale elementelor au mai puţine linii, sunt mai simple şi mai uşor de interpretat decât spectrele corespunzătoare din domeniul vizibil şi UV. Aceasta se explică prin numărul mai redus de electroni care populează nivelurile energetice între care au loc tranziţii cu emisie de raze X, straturile interioare de electroni ale atomilor având o structură mai simplă decât cele exterioare.

După cum se vede din fig. 1.4 din punct de vedere energetic, există un singur nivel K, electronii L sunt grupaţi în trei niveluri (subniveluri) iar electronii din stratul M (complet) în 5 subniveluri.

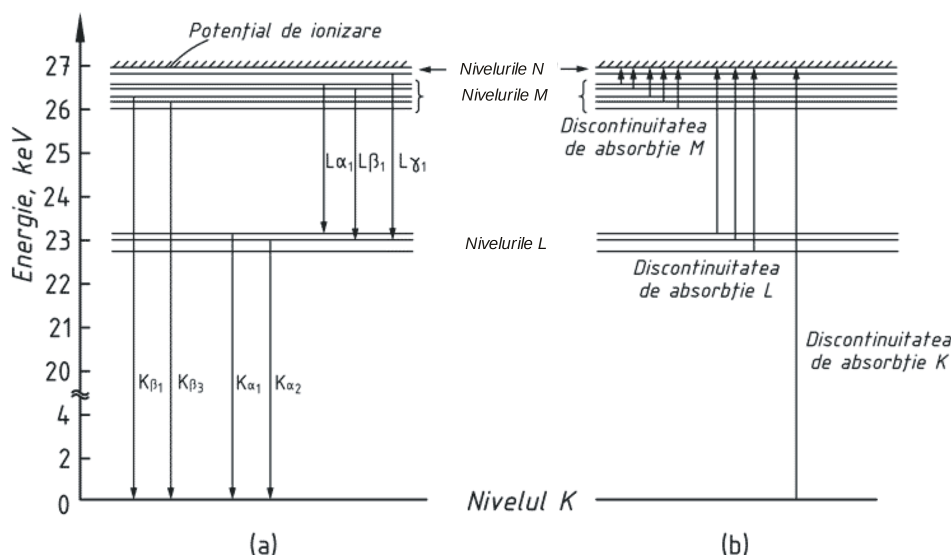


Fig. 1.4. Diagrama nivelurilor energetice ale cadmiului pentru tranziţii de raze X. (a) emisie de raze X; (b) absorbţie de raze X.

Frecvenţa radiaţiilor X emise de un element poate fi calculată pe baza relaţiei

dată de Moseley:

$$\nu = R(Z-\sigma)^2\left(\frac{1}{n_1^2}-\frac{1}{n_2^2}\right) \tag{1.11}$$

unde R este constanta lui Rydberg, Z numărul de ordine al elementului respectiv, σ este o constantă de ecranare (datorită învelişurilor exterioare de electroni), iar n_2 şi n_1 sunt numerele cuantice principale ale nivelurilor între care are loc tranziţia. Relaţia (1.11) ne indică faptul că radiaţiile X emise de elementele grele au energii mai mari, frecvenţa radiaţiilor X corespunzând unui anumit tip de tranziţie crescând cu pătratul numărului de ordine.

Emisia de raze X în care pentru excitare se folosesc fascicule de electroni are mai puţine aplicaţii analitice; mult mai utilizată este fluorescenţa de raze X în care pentru excitare se folosesc radiaţii X cu energie mare, pe baza spectrelor obţinute putându-se face atât o analiză calitativă, cât şi una cantitativă.

La absorbţia radiaţiilor X de către atomi nu vor apărea linii de absorbţie, cum se întâmplă la absorbţia radiaţiilor din domeniul vizibil şi UV. În spectru apar numai anumite discontinuităţi, la anumite lungimi de undă, caracteristice atomului respectiv.

Aceasta se datorează faptului că la o tranziţie de raze X electronul este complet îndepărtat din atom, locul rămas liber fiind ocupat de electroni cu numere cuantice mai mari (deci mai îndepărtaţi de nucleu). Pe măsură ce energia radiaţiilor incidente creşte, sunt ionizaţi electroni din straturi din ce în ce mai apropiate de nucleu. Pentru fiecare nivel şi subnivel ocupat cu electroni va exista o energie limită a radiaţiei incidente, sub care nu se va putea expulza electroni din acesta (fig.1.4b). Peste această limită radiaţia va fi absorbită în mod accentuat, apărând o discontinuitate în spectrul de absorbţie (fig. 1.5). Poziţia discontinuităţii în spectru este caracteristică unui element şi corespunde energiei minime a radiaţiei ce expulzează electronul din nivelul sau subnivelul respectiv. Vor putea fi absorbite şi radiaţii cu energie mai mare, surplusul de energie fiind cedat electronului expulzat sub formă de energie cinetică.

Absorbţia unui fascicul monocromatic de radiaţii X este dată de relaţia de mai jos (care este discutată pe larg în cap. 1.7.1):

$$I = I_0 e^{-\mu l} \tag{1.12}$$

unde:

I este intensitatea radiaţiei transmise printr-o probă omogenă de grosime l, exprimată în cm, I_0 este intensitatea radiaţiei incidente, iar μ este coeficientul liniar de absorbţie exprimat în cm^{-1}. Coeficientul liniar de absorbţie depinde de lungimea de undă a razelor X şi de atomii ce absorb radiaţia.

Coeficientul de absorbţie de masă, μ_m, se obţine prin împărţirea lui μ la ρ, care este densitatea materialului respectiv:

$$\mu_m = \frac{\mu}{\rho} \tag{1.13}$$

Valoarea lui μ_m este dată de relaţia:

$$\mu_m = \frac{CNZ^4\lambda^3}{A} \tag{1.14}$$

unde C este o constantă caracteristică pentru un domeniu cuprins între două discontinuităţi dintr-un spectru de absorbţie, N este numărul lui Avogadro, Z este numărul de ordine, A este masa atomică a elementului absorbant iar λ este lungimea de undă a radiaţiei absorbite.

Este de remarcat faptul că μ_m nu depinde de starea fizică sau chimică a speciei absorbante. El este o mărime aditivă pentru un compus sau amestec, fiind dat de relaţia:

$$\mu_{mt} = \mu_{m1} \cdot w_1 + \mu_{m2} \cdot w_2 + ... \tag{1.15}$$

unde μ_{mt} reprezintă coeficientul de absorbţie de masă total, μ_{m1}, μ_{m2}, ... coeficienţi de absorbţie pentru componenţii individuali, iar w_1, w_2 etc. sunt fracţiile corespunzătoare de greutate. Reprezentând log μ_m funcţie de lg λ nu vom obţine o dreaptă, ci o serie de segmente de dreaptă cu aceeaşi pantă, legate prin discontinuităţile caracteristice, după cum se vede în fig. 1.5.

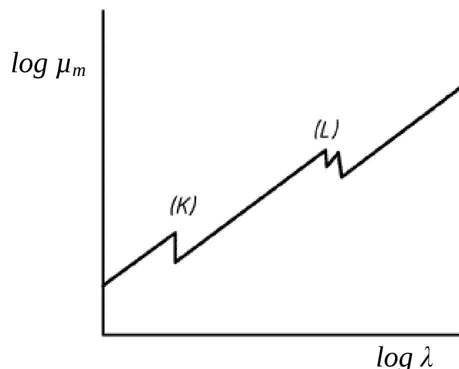


Fig. 1.5. Absorbţia radiaţiilor X de către o specie atomică.

Aceste discontinuităţi sunt corespunzătoare nivelurilor energetice ale electronilor din straturile K, L, M, ... Pe baza poziţiei acestora în spectrul de absorbţie se poate face o analiză calitativă, iar pe baza înălţimii lor se poate face o analiză cantitativă. Metodele de analiză bazate pe absorbţia razelor X nu au aplicaţii prea largi. Pot fi utilizate însă cu bune rezultate pentru determinarea unor

elemente cu număr atomic mare într-o matrice ce conţine elemente uşoare. Astfel, poate fi determinat plumbul prezent sub formă de tetraetil plumb sau bromul prezent sub formă de derivaţi bromuraţi în benzine.

1.1.4. Absorbţia, emisia şi difuzia moleculară a radiaţiei

La interacţia moleculelor cu un fascicul de radiaţii pot să aibă loc mai multe fenomene dintre care discutăm următoarele:

Absorbţia radiaţiei

În urma absorbţiei de energie se poate modifica direcţia sau mărimea momentului de dipol electric al moleculei care interacţionează. Vor avea loc tranziţii între stări energetice de rotaţie, vibraţie sau electronice, al căror studiu constituie baza spectrometriei moleculare.

Emisia radiaţiei

Din stările excitate apărute în urma interacţiei moleculelor cu radiaţii electromagnetice, o parte dintre acestea pot reveni la stări cu energie mai mică prin emisie de energie. Acesta constituie fenomenul de fluorescenţă şi fosforescenţă.

Difuzia radiaţiei şi difuzia combinată a radiaţiei (efectul Raman)

Prin spectrometrie moleculară optică se înţelege de obicei spectrometria electronică şi de vibraţie şi este studiată prin metode ale spectrometriei de emisie şi de absorbţie în domeniul UV, vizibil şi infraroşu (abreviat IR) al spectrului.

În urma absorbţiei radiaţiei de către molecule pot avea loc tranziţii însoţite de o modificare a momentului magnetic al electronilor sau nucleelor, de studiul acestor fenomene ocupându-se spectrometria de rezonanţă magnetică.

Pentru energii mari ale radiaţiei absorbite poate să aibă loc o ionizare sau o fragmentare a moleculelor, separarea şi identificarea moleculelor ionizate sau a fragmentelor acestora constituind baza spectrometriei de masă.

În continuare vom discuta absorbţia, emisia şi difuzia moleculară a radiaţiilor în domeniul UV, vizibil şi IR al spectrului, principiile spectrometriei de rezonanţă magnetică şi ale spectrometriei de masă urmând să fie discutate în capitole separate.

1.1.4.1. Absorbţia radiaţiei de către molecule

Absorbţia radiaţiei electromagnetice de către molecule este mult mai complexă decât absorbţia de către atomii individuali. Starea energetică a unei molecule include componente electronice, de vibraţie şi rotaţie. Toate aceste componente energetice sunt cuantificate.

Diferenţele de energie între nivelurile electronice moleculare sunt mult mai mari decât între stările de vibraţie şi diferenţele de energie între stările de vibraţie sunt semnificativ mai mari decât între stările de rotaţie. În mod obişnuit, la

absorbţia radiaţiei electromagnetice de către molecule, aceasta interacţionează prin componenta sa electrică. Pentru ca radiaţia să poată fi absorbită, ea trebuie să aibă energia egală cu diferenţa între două niveluri energetice ale moleculei şi în plus, tranziţia moleculară trebuie să fie însoţită de o modificare a poziţiei centrului ei electric, a momentului de dipol. Numai astfel, molecula poate interacţiona cu componenta electrică a radiaţiei electromagnetice.

Energiile necesare pentru a provoca tranziţii între stări energetice ale electronilor din orbitalii moleculari sunt cele mai mari şi corespund domeniului vizibil, 400-800 nm şi UV 100-400 nm. Pentru a putea provoca tranziţii între stări energetice de vibraţie sunt necesare energii mai mici, deci vor fi absorbite radiaţii cu lungimi de undă mai mari, corespunzând domeniului IR. Tranziţiile între stări energetice de rotaţie vor fi excitate de radiaţii cu energie mai mică, corespunzătoare domeniului IR îndepărtat şi microundelor. Spectrele pure de rotaţie au aplicaţii analitice reduse şi din acest motiv nu vor fi discutate în continuare.

1.1.4.1.a. Tranziţii electronice moleculare

Atunci când doi atomi formează o legătură covalentă, electronii ce participă la legatura dintre cei doi atomi ocupă un nou orbital, un orbital molecular. Are loc o combinare a doi orbitali atomici pentru a forma un orbital molecular “*de legătură*” de energie mică şi un orbital molecular “*de antilegătură*” cu energie mult mai mare. Astfel, conform teoriei orbitalilor moleculari, fiecare orbital σ de legătură trebuie să aibă un orbital corespunzător de antilegătură σ* şi fiecare orbital de legătură π trebuie să aibă un orbital corespunzător de antilegătură π*.

Electronii de valenţă care nu participă la legături chimice în moleculă sunt numiţi electroni de nelegătură “*n*”. Electronii *n* se găsesc de exemplu în orbitalii atomici ai azotului, oxigenului, sulfului etc.

Tranziţiile electronice pentru molecule au loc la absorbţia radiaţiei din domeniul vizibil sau ultraviolet de către electroni aflaţi în orbitali *n*, σ sau π. Aceştia sunt trecuţi în orbitali de antilegătură care au energii mai mari. Pot să aibă loc următoarele tranziţii: σ → σ*, *n* → σ*, *n* → π* şi π → π* (fig. 1.6). Valorile Δ*E* pentru aceste tranziţii cresc în ordinea: *n* → π* < π → π* < *n* → σ* << σ → σ*. Energiile necesare pentru tranziţii σ → σ* sunt cele mai mari. Compuşi ca de exemplu hidrocarburile saturate care nu au electroni *n* şi numai legături σ nu absorb radiaţia decât în UV îndepărtat (de vid). Astfel, propanul absoarbe radiaţie la 135 nm.

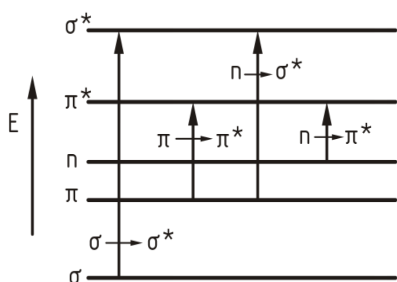


Fig. 1.6. Nivelurile de energie ale orbitalilor moleculari

Dintre compuşii care prezintă tranziţii de tipul *n* → σ* putem menţiona clorura de metil (λ_{max} = 173 nm) şi trimetilamina (λ_{max} = 227 nm).

Tranziţiile cu energia cea mai mică sunt $n \rightarrow \pi^*$. De exemplu cetonele şi aldehidele saturate prezintă absorbţie datorită unei tranziţii $n \rightarrow \pi^*$ la aproximativ 285 nm.

Este de reţinut însă faptul că tranziţiile electronice sunt însoţite în cele mai multe cazuri de tranziţii între stări energetice de vibraţie şi rotaţie (fig. 1.7) ceea ce conferă o structură fină benzilor de absorbţie electronică. Această structură nu se poate observa decât pentru anumite tipuri de molecule. Frecvent, benzile de absorbţie datorită vibraţiei şi rotaţiei (ce însoţesc o tranziţie electronică) se contopesc, dând naştere unei benzi de absorbţie late. Tranziţia electronică determină poziţia acestei benzi în spectru, iar tranziţiile de vibraţie şi rotaţie lăţimea ei.

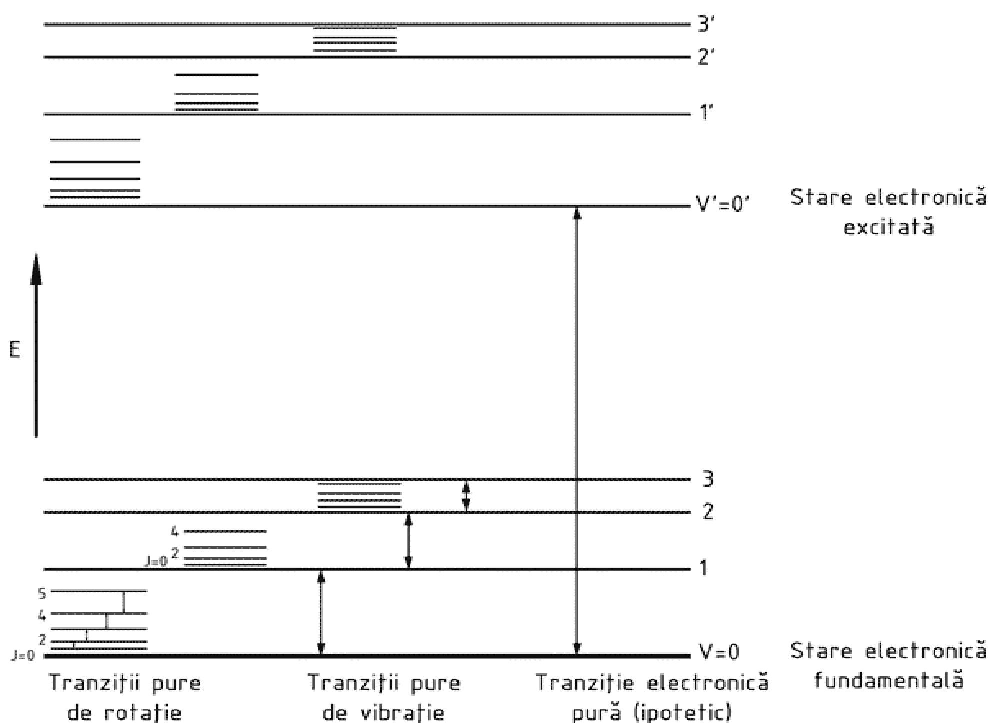


Fig. 1.7. Tranziţii între stări energetice de rotaţie, vibraţie şi electronice în molecule.

Frecvent, în urma unei tranziţii electronice se modifică în mare măsură geometria moleculei faţă de starea iniţială, aceasta datorită slăbirii legăturii la care participă electronul ce a trecut pe nivelul excitat.

Tranziţiile electronice au loc într-un timp foarte scurt (10^{-15} s) corespunzând perioadei de oscilaţie a radiaţiei electromagnetice, perioadă în care fotonul şi molecula sunt în contact. Acest timp este mult mai scurt decât perioada de vibraţie a atomilor (10^{-10} – 10^{-13} s). Se poate considera deci, că în timpul tranziţiei electronice nucleele nu-şi schimbă practic poziţia, iar moleculele excitate

electronic pot fi considerate imediat după tranziţie într-o geometrie practic identică cu a stării lor fundamentale. Din acest motiv, tranziţiile electronice pot fi reprezentate sub forma unor linii verticale într-o diagramă energetică (fig. 1.8). Principiul Frank-Condon ne indică probabilităţile tranziţiilor de vibraţie care însoţesc tranziţiile electronice. Tranziţiile sunt cele mai probabile în momentele în care molecula adoptă în cursul vibraţiilor o geometrie comună stării fundamentale şi a celei excitate.

Să considerăm o moleculă în stare fundamentală. Deoarece aceasta vibrează chiar când se află pe nivelul de vibraţie cel mai coborât, trebuie considerat un domeniu al distanţei internucleare. Se poate considera că cea mai probabilă distanţă internucleară va fi însă cea corespunzătoare poziţiei de echilibru, amplitudinea vibraţiilor fiind mică. Pentru stări vibraţionale cu energie mai mare, cea mai probabilă poziţie a nucleelor este la sfârşitul vibraţiilor, când atomii se opresc şi îşi schimbă direcţia.

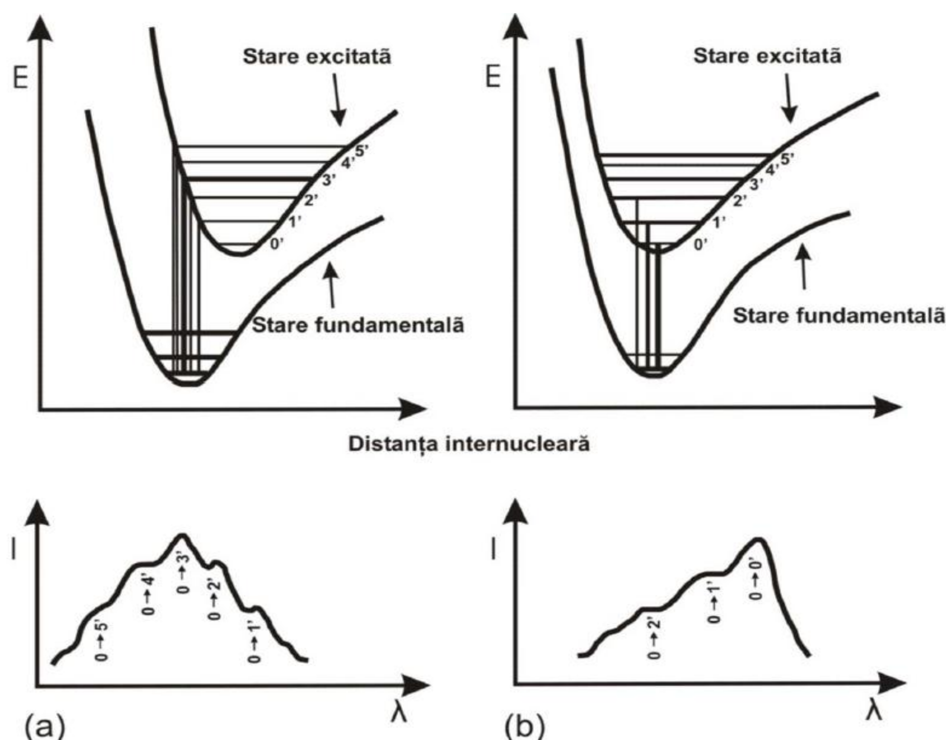


Fig. 1.8. Tranziţii electronice însoţite de tranziţii de vibraţie conform principiului Frank-Condon şi spectrele de absorbţie corespunzătoare: (a) – cu slăbirea legăturii; (b) – fără slăbirea legăturii.

După cum se vede în fig. 1.8b, atunci când nu se modifică distanţa între nuclee în urma excitării electronice (nu se modifică tăria legăturii) sunt mai

probabile tranziţiile pe nivelul de vibraţie fundamental. În cazul slăbirii legăturii în urma excitării electronice, fig. 1.8a, vor fi mai probabile tranziţiile pe niveluri de vibraţie mai înalte.

1.1.4.1.b. Tranziţii de vibraţie moleculară

Atomii în molecule nu sunt statici. În mod normal sunt o multitudine de vibraţii asociate acestora. Frecvenţele de vibraţie depind de masele atomilor şi tăria legăturilor. Toate sunt vibraţii normale la care participă toţi atomii dintr-o molecula. La unele vibraţii energia este concentrată în anumite legături ceea ce le face caracteristice pentru anumite grupări de atomi.

Există două tipuri principale de vibraţii:

- *de întindere,* numite şi vibraţii de valenţă întrucât au loc de-a lungul legăturii. Se notează cu ν.
- *de deformare,* prin care se deformează unghiul valenţelor.Se notează cu δ.

Vibraţiile de întindere sunt fie vibraţii izolate (de ex. în gruparea carbonil), fie sunt vibraţii cuplate (de ex. în gruparea metilen). Vibraţiile cuplate sunt simetrice sau antisimetrice, după cum se vede în fig. 1.9.

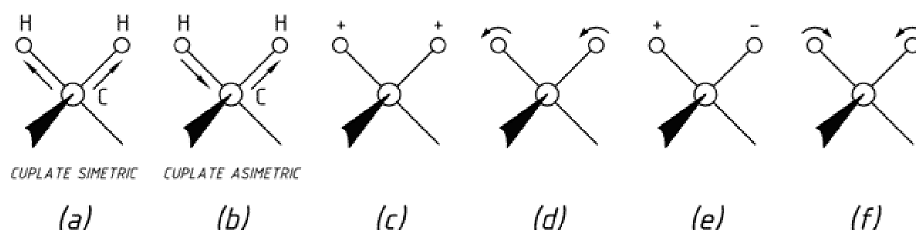


Fig. 1.9. Vibraţii de întindere (a) şi (b) şi de deformare (c), (d), (e) şi (f).

Vibraţiile de întindere necesită, în general, energii mai mari decât vibraţiile de deformare şi în consecinţă, absorbţia radiaţiilor electromagnetice are loc pentru frecvenţe mai mari.

Pentru o moleculă poliatomică, fiecare tip de vibraţie are o frecvenţă definită. Energiile corespunzătoare vibraţiilor moleculare sunt cuantificate. Atunci când o radiaţie electromagnetică cu aceeaşi frecvenţă cu cea corespunzătoare vibraţiei unor atomi într-o legătură vine în contact cu aceasta, poate să aibă loc absorbţia radiaţiei. Absorbţia are loc numai dacă atomii care vibrează în cadrul legăturii determină apariţia unui moment de dipol oscilant care poate interacţiona cu câmpul electric al radiaţiei. Vor absorbi radiaţii în domeniul IR al spectrului numai acele vibraţii pentru care are loc o variaţie a momentului de dipol.

În procesul de absorbţie are loc o mărire a amplitudinii uneia dintre vibraţiile moleculare. Când molecula revine la starea fundamentală energia absorbită este disipată sub formă de căldură.

Vibraţiile pe care le execută o moleculă în ansamblul ei cu păstrarea imobilă a centrului său de masă se numesc vibraţii normale sau fundamentale. O moleculă neliniară, având *n* atomi, are un număr de *3n-6* vibraţii normale. O moleculă liniară cu *n* atomi are *3n-5* vibraţii normale. Numărul real de benzi de absorbţie din spectru poate fi mai mare sau mai mic (de obicei este mai mic) decât cel rezultat din relaţia de mai sus. Creşterea numărului de benzi faţă de cel teoretic se datorează armonicelor, benzilor de combinare sau rezonanţei Fermi. Armonicele sunt benzi de intensitate mică ce apar la un număr de undă dublu, triplu etc. faţă de banda fundamentală. Benzile de combinare sunt benzi de intensitate mică care apar la numere de undă egale cu diferenţa sau cu suma a două vibraţii fundamentale. Rezonanţa Fermi constă în scindarea unei benzi fundamentale atunci când în imediata ei vecinătate se găseşte o armonică sau o bandă de combinare.

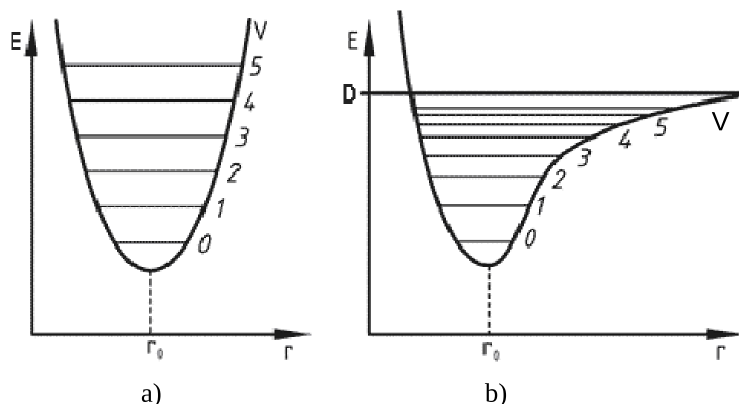
Frecvenţa corespunzătoare unui sistem format din doi atomi care vibrează în cadrul legăturii poate fi calculată pe baza legii mişcării armonice simple şi este dată de relaţia:

$$\nu = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{f}{\mu}} \qquad (1.16)$$

unde: *f* este constanta de forţă şi μ masa redusă a sistemului $\mu = m_A m_B/(m_A + m_B)$ unde m_A şi m_B reprezintă masele nucleelor celor doi atomi. Pe baza legilor mecanicii cuantice se obţin pentru un oscilator armonic următoarele stări energetice discrete:

$$E(v) = h\nu\left(v + \frac{1}{2}\right) = \frac{h}{2\pi}\sqrt{\frac{f}{\mu}}\left(v + \frac{1}{2}\right); \quad \tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{f}{\mu}}\left(v + \frac{1}{2}\right) \qquad (1.17)$$

v = 0, 1, 2, ... numere cuantice de vibraţie. Regula de selecţie va fi: v = $\pm$ 1.



a) b)

Fig. 1.10. Curbe de energie potenţială pentru un oscilator armonic, (a), şi nearmonic, (b). D – energia de disociere; r_0 – distanţa de echilibru între atomi.

În cazul moleculelor nu este îndeplinită o condiţie esenţială a unui oscilator armonic: valoarea lui *f* nu este constantă în raport cu elongaţia iar energia de vibraţie a unei legături este dată de relaţia:

$$E(v) = h\nu\left(v + \frac{1}{2}\right) - \frac{h^2\nu^2}{4D}\left(v + \frac{1}{2}\right)^2 \qquad (1.18)$$

unde *D* este energia de disociere.

În fig. 1.10 se prezintă curbele de energie potenţială pentru un oscilator armonic şi un oscilator nearmonic. Datorită nearmonicităţii oscilatorului, regula de selecţie $\Delta v = \pm 1$ nu se mai respectă strict, pe lângă vibraţia de bază fiind posibile vibraţii pentru care $\Delta v = \pm 2, \pm 3, ...$

Absorbţia moleculară în domeniul UV şi vizibil este utilizată în special pentru determinări cantitative pe baza legii Lambert Beer, informaţiile calitative şi structurale care pot fi obţinute fiind destul de reduse.

Absorbţia moleculară în domeniul IR este utilizată în special pentru determinări calitative, de structură a moleculelor, dar pot fi făcute şi determinări cantitative.

1.1.4.2. Emisia radiaţiei de către molecule

În mod asemănător cu atomii, moleculele pot emite radiaţii care au aceleaşi lungimi de unda cu cele ale radiaţiilor pe care moleculele respective le pot absorbi. La temperatura camerei, moleculele se găsesc, de obicei, în starea fundamentală. Prin încălzirea unei probe la temperaturi în jur de 100 ^{0}C are loc trecerea moleculelor în stări vibraţionale excitate ale stării electronice fundamentale, de pe care pot reveni în stări cu energie mai mică prin emisie de energie. Se obţine astfel un spectru de emisie în IR. Radiaţiile emise sunt foarte slabe iar ridicarea temperaturii poate duce uşor la descompunerea moleculelor. Din acest motiv această metodă de obţinere a spectrelor de emisie ale moleculelor este mai puţin utilizată.

Drept surse de excitare pentru obţinerea spectrelor de emisie ale moleculelor se pot folosi cu bune rezultate fascicule de radiaţii cu energie suficient de mare (fenomenul de fluorescenţă sau fosforescentă moleculară).

Fluorescenţa şi fosforescenţa

Fluorescenţa şi fosforescenţa moleculară constau în emisia de radiaţii de către o moleculă, în urma unui fenomen de absorbţie. Absorbţia este o condiţie necesară dar nu suficientă pentru a avea loc acest fenomen. Excitarea se face cu radiaţii de o energie mai mare, folosind, de exemplu, radiaţii din domeniul UV al spectrului iar emisia are loc de obicei în domeniul vizibil. Pentru a explica fluorescenţa şi fosforescenţa, să considerăm o parte din stările energetice ale unei

molecule, prezentate schematic în fig. 1.11(I) (diagrama Jablonski):

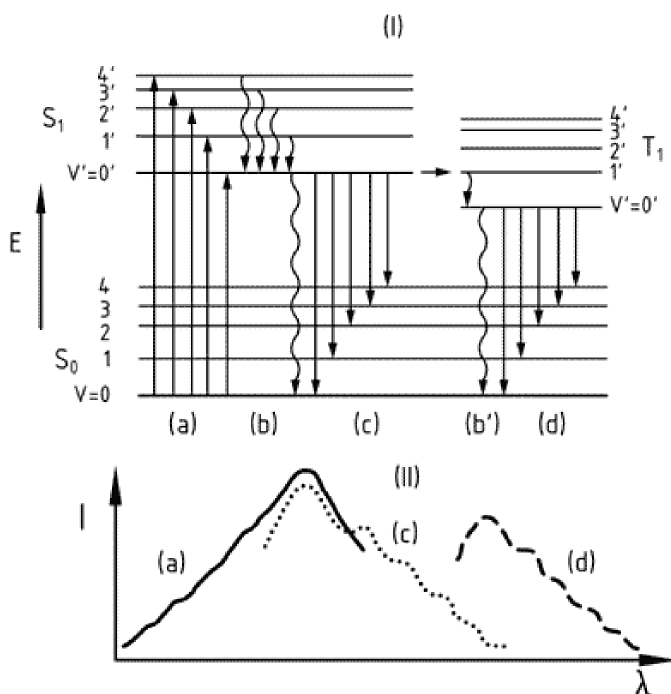


Fig. 1.11. (I) – Diagrama nivelurilor de energie electronică şi de vibraţie ale unei molecule cu o stare fundamentală de singlet S_o şi stări excitate de singlet, S_1 şi triplet T_1. Tranziţiile neradiative sunt figurate prin linii ondulate: (a) – absorbţia radiaţiei, (b, b') – relaxare vibraţională şi conversie internă, (c) – fluorescenţă, (d) fosforescenţă. (II) – (a) spectru de absorbţie; (c) spectru de fluorescenţă; (d) spectru de fosforescenţă (la temperatură joasă).

La temperatura obişnuită, cea mai mare parte dintre molecule se găseşte pe cel mai coborât nivel de vibraţie al stării electronice fundamentale de singlet, S_o. De asemenea, molecula mai prezintă stările electronice excitate de singlet S_1 şi triplet, T_1.

În starea de singlet, toţi electronii dintr-o moleculă sunt cuplaţi, iar în starea de triplet molecula prezintă doi electroni al căror spin nu este cuplat.

Starea fundamentală a unei molecule este aproape totdeauna o stare de singlet. Deoarece doi electroni necuplaţi au o energie ceva mai mică decât doi electroni cuplaţi, starea de triplet are o energie ceva mai mică decât starea corespunzătoare de singlet, după cum se vede din fig. 1.11(I).

Să considerăm un proces de absorbţie a radiaţiei (în fig. 1.11 notat cu (a)). Vor avea loc tranziţii de pe cel mai coborât nivel de vibraţie al stării electronice fundamentale S_o, pe diferite niveluri de vibraţie ale stării electronice excitate (S_1). În continuare, molecula poate pierde energia absorbită în mai multe moduri. Alegerea unei anumite căi depinde de cinetica diferitelor procese competitive. Va fi aleasă calea pentru care timpul de viaţă al stării excitate va fi cel mai scurt. De

exemplu, molecula ce se află pe un nivel de vibraţie excitat al stării electronice excitate poate reveni la starea fundamentală emiţând o cuantă de energie egală cu diferenţa între cele două stări energetice. În soluţie, acest proces este foarte puţin probabil în comparaţie cu procesul competitiv de relaxare vibraţională (în fig. 1.11(I) notat cu (b)) care este un proces neradiativ. Într-un timp de ordinul 10^{-12} s, molecula ajunge pe nivelul de vibraţie cel mai coborât al stării electronice excitate, fie prin cedarea energiei vibraţionale altor molecule, prin ciocniri, fie prin excitarea altor moduri posibile de vibraţie sau rotaţie ale moleculei excitate. În faza gazoasă, relaxarea vibraţională este mai puţin eficientă, frecvent având loc emisia de radiaţii cu energie egală cu cea absorbită. Acest proces se numeşte fluorescenţă de rezonanţă şi este important în cazul fluorescenţei atomice.

Datorită vitezei mari a procesului de relaxare vibraţională, cele mai multe molecule excitate în soluţie vor ajunge la nivelul de vibraţie cel mai coborât al stării excitate de singlet. Din această stare, molecula poate reveni la starea fundamentală în mai multe moduri, printre care este şi emisia de energie radiantă. Pierderea radiativă de energie prin revenirea pe diferite niveluri de vibraţie ale stării electronice fundamentale se numeşte fluorescenţă. Acest proces decurge într-un timp foarte scurt, 10^{-7} până la 10^{-9} s. Întrucât revenirea la starea fundamentală se face de pe cel mai coborât nivel de vibraţie al stării electronice excitate, forma benzii de fluorescenţă nu va depinde practic de lungimea de undă a radiaţiei excitatoare, deşi intensitatea radiaţiei de fluorescenţă este determinată de intensitatea radiaţiei excitatoare.

O serie de alte forme de pierdere de energie pot fi competitive cu fluorescenţa şi din acest motiv este necesar să folosim un factor de corecţie numit randament cuantic de fluorescenţă.

Deoarece fluorescenţa aproape întotdeauna apare după o anumită pierdere de energie, lungimile de undă ale radiaţiilor de fluorescenţă vor fi mai mari decât ale radiaţiilor absorbite, după cum se vede din fig. 1.11(II)(c). Pentru un mare număr de molecule, banda de fluorescenţă este imaginea în oglindă a benzii de absorbţie, curbele (II)(c) şi (II)(a) din fig. 1.11. Intensitatea radiaţiilor absorbite sau emise depinde de probabilitatea tranziţiilor între nivelurile energetice ale moleculei. Din fig. 1.8b se poate constata că atunci când la excitarea electronică nu are loc o modificare a tăriei legăturii, probabilitatea tranziţiilor de absorbţie din starea fundamentală scade în ordinea: $0 \rightarrow 0' > 0 \rightarrow 1' > 0 \rightarrow 2' > 0 \rightarrow 3'$. Probabilitatea pentru tranziţiile de fluorescenţă care au loc de pe cel mai coborât nivel de vibraţie al stării electronice excitate de singlet 0', pe diferite niveluri de vibraţie a stării electronice fundamentale, va descreşte în ordinea: $0' \rightarrow 0 > 0' \rightarrow 1 > 0' \rightarrow 2 > 0 \rightarrow 3$. Aceasta va determina un aspect al benzilor de absorbţie şi emisie ca cel prezentat în fig. 1.11(II)(c) şi (II)(a), pentru care maximele de absorbţie şi de emisie sunt la aceeaşi lungime de undă.

Dacă însă în urma excitării electronice se modifică tăria legăturii, deci şi distanţa între nuclee, atunci cea mai probabilă tranziţie de absorbţie va fi cea din starea fundamentală (v=0) pe un anumit nivel de vibraţie (de exemplu v' = 3') al

stării electronice excitate, după cum se vede din fig.1.8a, toate celelalte tranziţii având o probabilitate mai mică.

Tranziţia de fluorescenţă cea mai probabilă, deci cu intensitatea cea mai mare, va avea loc de pe nivelul v' = 0' a stării electronice excitate, pe un anumit nivel de vibraţie cu numărul cuantic v = v' al stării electronice fundamentale, dat de intersecţia verticalei ce uneşte mijlocul segmentului ce ne indică valoarea energiei pentru v' = 0' şi curba de energie potenţială pentru starea electronică fundamentală.

Toate celelalte tranziţii vor avea o probabilitate mai mică. Notând cu *a'* respectiv cu *a* nivelurile de vibraţie ale stării electronice excitate şi fundamentale, putem spune că tranziţiile de absorbţie $0 \rightarrow a'$ vor avea aceeaşi probabilitate cu tranziţiile de emisie $0' \rightarrow a$, ceea ce va face ca spectrul de emisie să fie imaginea în oglindă a spectrului de fluorescenţă. Maximul benzii de fluorescenţă va fi însă deplasat la lungimi de undă mai mari faţă de cel de absorbţie.

Din starea excitată de singlet, molecula poate reveni la starea fundamentală şi prin conversia internă a energiei în energie termică, proces neradiativ, sau prin conversia intersistem, prin schimbarea spinului unui electron din starea excitată de singlet, ducând la o altă stare excitată, de triplet, T_1. În starea de triplet, relaxarea vibraţională va fi, de asemenea, foarte rapidă. Deoarece conversia intersistem este un proces de spin interzis, deci relativ puţin probabil, va fi competitivă cu fluorescenţa şi conversia internă, numai pentru anumite molecule. Orice tranziţie din starea de triplet T_1 la starea fundamentală este de asemenea, un proces de spin interzis. Din acest motiv, durata de viaţă a stării de triplet este relativ lungă, 10^{-6} – 10 s.

Dacă pierderea de energie se face în continuare radiativ, molecula revenind la starea fundamentală pe diferite niveluri de vibraţie ale stării electronice corespunzătoare acestei stări, are loc fenomenul de fosforescenţă. Fosforescenţa se studiază la temperaturi foarte joase de ex. la temperatura azotului lichid, la aceste temperaturi crescând probabilitatea tranziţiilor radiative. Revenirea la starea fundamentală se poate face şi neradiativ, prin conversie internă. Din cauza caracterului de spin interzis, fosforescenţa are loc într-un timp mai lung, egal cu timpul de viaţă al stării de triplet.

Lungimile de undă ale radiaţiilor emise în urma fenomenului de fosforescenţă vor fi mai mari decât cele ale radiaţiilor de fluorescenţă (fig. 1.11(II)(d)) deoarece starea de triplet are o energie mai mică decât starea de singlet.

Pentru anumite tipuri de molecule se poate reveni din starea de triplet T1 pe nivelul S1 (prin şocuri termice) emiţându-se apoi cu întârziere spectrul de fluorescenţă. Radiaţiile de fosforescenţă emise în acest mod vor avea aceeaşi lungime de undă ca cele de fluorescenţă. Şi în cazul fosforescenţei putem vorbi de un randament cuantic de fosforescenţă care, în general, este cu atât mai mare cu cât temperatura este mai mică. Din acest motiv, probele de analizat se răcesc frecvent la temperatura azotului lichid.

1.1.4.3. Difuzia radiaţiei, efectul Raman

Spre deosebire de absorbţie şi emisie, difuzia radiaţiei nu implică tranziţii între stări cu energie cuantificată ale unei particule.

Dacă un fascicul de radiaţii electromagnetice vine în contact cu o particulă (atom, ion sau moleculă) care este mică în comparaţie cu lungimea de undă a radiaţiei, aceasta va fi supusă unei perturbaţii puternice, determinată de câmpurile oscilante, magnetic şi electric ale radiaţiei. In timp ce radiaţia trece, particula se va găsi într-un câmp puternic a cărui polaritate alternează cu frecvenţa oscilaţiei. Dacă particula este polarizabilă, sarcina indusă va oscila de asemenea. Dipolul oscilant indus în particulă va produce un câmp propriu care oscilează cu aceeaşi frecvenţă cu cea a radiaţiei incidente. Acest câmp acţionează el însuşi ca o sursă de radiaţii, astfel că o radiaţie de aceeaşi lungime de undă ca a celei incidente este emisă într-o direcţie aleatoare (radiaţiile difuzate fiind emise în toate direcţiile posibile). Acest tip de împrăştiere se numeşte difuzie (împrăştiere) Rayleigh şi este caracteristică pentru particule de dimensiuni mici, ca de exemplu atomi şi molecule.

Pentru ca o radiaţie să fie difuzată prin efect Rayleigh este necesar ca polarizabilitatea particulei să rămână constantă. Dacă polarizabilitatea particulei variază în timpul difuziei radiaţiei frecvenţa radiaţiei difuzate se va modifica.

Să presupunem că o moleculă suferă o schimbare de polarizabilitate în timpul unei vibraţii normale. Un asemenea mod de vibraţie constituie baza pentru efectul Raman, iar vibraţia respectivă este Raman activă. De exemplu, la vibraţia simetrică de întindere a legăturilor în molecula de CO_2 nu va fi nici o variaţie a momentului de dipol, deci molecula nu va putea absorbi radiaţii în domeniul IR. Totuşi, norul de electroni din jurul moleculei se întinde şi contractă alternativ ceea ce determină o variaţie a polarizabilităţii.

Dacă radiaţia incidentă este monocromatică radiaţia împrăştiată prin efect Raman îşi pierde acest caracter, apărând în plus o serie de linii (linii Raman) de o parte şi de alta a liniei corespunzătoare lungimii de undă a radiaţiei incidente.

Să considerăm o moleculă aflată iniţial în starea fundamentală de vibraţie, v_0, după cum se vede din fig. 1.12. La interacţia cu radiaţia electromagnetică, molecula va fi polarizată, intrând în oscilaţie. Energia primită suplimentar este E_0, energia radiaţiei incidente. *Molecula nu va fi însă într-o stare excitată în sensul convenţional*, deşi energia ei a crescut în urma interacţiei cu radiaţia incidentă. Molecula nu a fost excitată pe nici un nivel cuantificat de energie şi rămâne cu energia suplimentară numai atâta timp cât trece unda electromagnetică. După trecerea undei, molecula polarizată revine pe un nivel cuantificat de energie vibraţională, încetând să oscileze. Dacă nivelul cuantificat este altul decât cel ocupat iniţial de moleculă, v_0, pierderea de energie E_R va fi mai mică decât energia primită, E_0. După cum se vede din fig. 1.12A, diferenţa $E_0 - E_R$ este egală cu diferenţa de energie între starea de vibraţie fundamentală şi starea de vibraţie excitată. E_v este extrasă din radiaţia incidentă, astfel încât radiaţia difuzată va conţine o componentă cu frecvenţa ν_R egală cu diferenţa între frecvenţa ν_0 a

radiaţiei incidente şi ν_v a vibraţiei moleculare active în Raman.

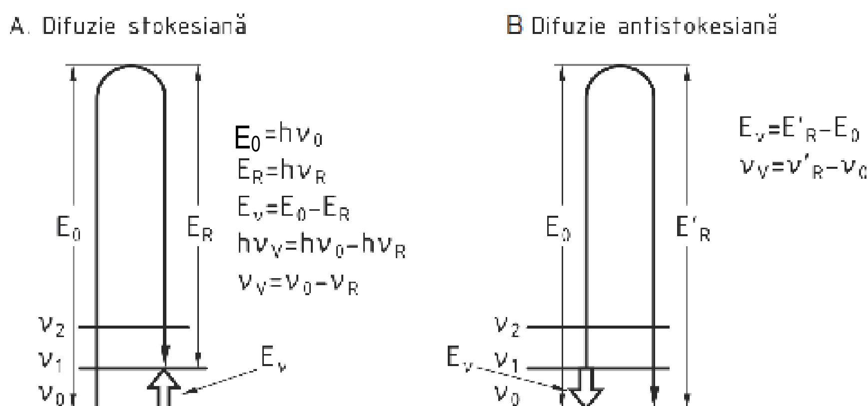


Fig. 1.12. Reprezentarea nivelurilor energetice ale unei molecule şi a tranziţiilor corespunzătoare la difuzia radiaţiei prin efect Raman.

Difuzia Raman de către moleculele aflate deja în stări vibraţionale excitate este prezentată în fig. 1.12B. În acest caz, molecula se află pe un nivel de excitare vibraţională (de exemplu v_1). Interacţionând cu radiaţia incidentă, energia ei creşte cu valoarea E_0, egală cu $h\nu_0$. Dacă molecula revine la nivelul de vibraţie fundamental, energia pierdută va fi $E_R' = E_0 + E_v$. Frecvenţa ν_R' a acestei radiaţii difuzate va fi egală cu suma frecvenţelor radiaţiei incidente ν_0 şi a vibraţiei moleculare ν_v.

Deoarece la temperatura obişnuită cele mai multe molecule sunt în stare fundamentală de vibraţie, procesul prezentat în fig. 1.12A este mult mai probabil, decât cel prezentat în fig. 1.12B. Liniile Raman cu frecvenţă mai mică $\nu_0 - \nu_v$, sunt deci mai intense; ele se numesc linii stokesiene, iar liniile Raman $\nu_0 + \nu_v$, cu frecvenţa mai mare, se numesc antistokesiene, aceasta în conformitate cu regula lui Stokes.

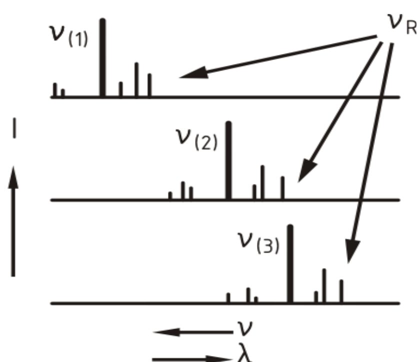


Fig. 1.13. Poziţia în spectru a liniilor Raman pentru diferite frecvenţe ale radiaţiei excitatoare.

Efectul Raman este aplicabil nu numai tranziţiilor de vibraţie ci şi altor tranziţii care implică o schimbare în polarizabilitate, ca de exemplu tranziţii de rotaţie sau electronice.

Deplasarea Raman a liniilor spectrale este independentă de frecvenţa radiaţiei incidente folosite, după cum se poate vedea din fig. 1.13. Intensitatea radiaţiei împrăştiate variază însă cu puterea a patra a frecvenţei radiaţiei incidente.

Spectrul Raman este, în general, asemănător cu spectrul în IR pentru moleculele complexe. Apar diferenţe mari între cele două

tipuri de spectre în cazul moleculelor cu un centru de simetrie. În spectrul Raman vor fi active vibraţiile simetrice (variaţie a polarizabilităţii) iar în spectrul IR, vibraţiile antisimetrice (variaţie a momentului de dipol).

1.2. APARATURA UTILIZATĂ ÎN SPECTROMETRIA DE ABSORBŢIE ÎN DOMENIILE ULTRAVIOLET, VIZIBIL ŞI INFRAROŞU

1.2.1. Schema generală a unui spectrometru

Principiile optice şi electronice pe baza cărora funcţionează spectrometrele utilizate în domeniul ultraviolet, vizibil şi infraroşu sunt, în general, aceleaşi. Totuşi, sunt unele diferenţe importante în ceea ce priveşte componentele specifice ale acestora şi aceasta în funcţie de domeniile spectrale în care sunt utilizate.

Frecvent se execută operaţia de fotometrare. Prin fotometrare se înţelege determinarea raportului intensităţilor a două radiaţii sau o funcţie a acestui raport. Aparatele folosite se numesc fotometre. În spectrometria de absorbţie se măsoară raportul dintre intensitatea radiaţiei transmise de probă şi a radiaţiei incidente. Dacă radiaţia folosită are o bandă spectrală foarte îngustă, este practic monocromatică, aparatele respective se numesc spectrofotometre sau, folosind o denumire mai generală, spectrometre.

În fig. 1.14 se prezintă schema bloc a unui spectrometru de absorbţie. Părţile esenţiale sunt: 1) sursă stabilizată de radiaţii electromagnetice, 2) monocromator, care separă radiaţiile în funcţie de lungimea de undă, 3) celule transparente care conţin proba de analizat şi proba de referinţă, 4) detector, 5) sistemul de evaluare.

Celula ce conţine proba este plasată de obicei după monocromator pentru instrumentele care operează în domeniul UV şi vizibil, pentru a diminua o eventuală descompunere sau fluorescenţă a probei datorită radiaţiilor cu energie mare neseparate din fasciculul incident. Pentru instrumentele în IR, proba este plasată înaintea monocromatorului pentru a permite o mai bună focalizare a radiaţiei pe detector şi a reduce cantitatea de radiaţie parazită.

În fig. 1.14 se prezintă schematic sursele spectrale, sistemele de separare a radiaţiilor, detectorii de radiaţii şi materialele pentru celule, ferestre sau lentile utilizate la construcţia spectrometrelor care operează în UV, vizibil şi IR.

Schema bloc a unui spectrometru de emisie diferă de schema unui spectrometru de absorbţie prin aceea că lipseşte compartimentul ce conţine celula cu proba de analizat şi de referinţă. Proba constituie ea însăşi sursa de radiaţii, radiaţii care trec prin monocromator, ajung la detector, iar răspunsul detectorului este redat de sistemul de evaluare.

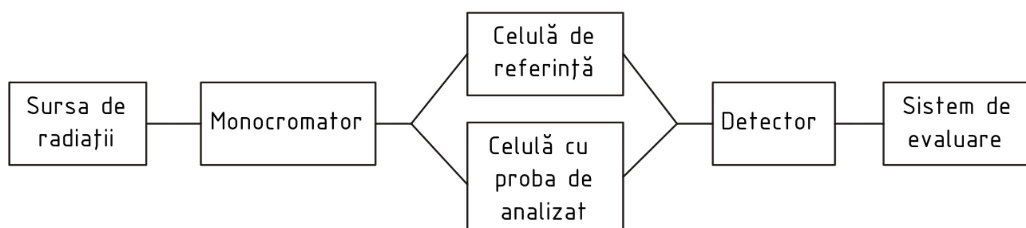


Fig. 1.14. Schema bloc a unui spectrometru de absorbţie.

Numărul de undă (cm^{-1})	20	100	1000	10.000	100.000
Lungime de undă	500µm	100µm	10µm	1000 400	200 100 nm

Domeniul spectral	Infraroşu îndepărtat	Infraroşu	Infraroşu apropiat	Vizibil	U.V.	U.V. de vid

Surse spectrale	Lămpi cu mercur de înaltă presiune; Sursa Globar; Filamentul Nernst; Sursa nicrom (aliaj Ni-Cr); Lampă de argon; Lampă de xenon; Lampă de hidrogen şi de deuteriu; Lampă cu filament de wolfram; Lămpi cu catod cavitar; Laser
Sisteme de separare a radiaţiilor în funcţie de lungimea de undă	Reţele de difracţie; Prisme de NaCl; Prismă CaF$_2$; Prisme de KBr; Prisme de cuarţ sau silice; Prisme de sticlă; Prisme CsI; Filtre de interferenţă; Prisme de CsBr şi de TlBr-TlI; Filtre de absorbţie din sticlă
Detectori de radiaţii	Celule pneumatice Golay; Termorezistenţe şi termocuple; Celule cu semiconductori; Tuburi fotomultiplicatoare; Celule fotoemisive
Materiale pentru celule ferestre şi lentile	LiF; Polietilenă; Cuarţ sau silice topită; Sticlă; NaCl; KBr; TlBr - TlI

Fig. 1.15. Domenii de utilizare ale surselor, sistemelor de separare şi detectorilor de radiaţii folosiţi în spectrometria de absorbţie în UV, vizibil şi IR. Materiale folosite pentru celule etc.

1.2.2. Surse de radiaţii

În spectrometria de absorbţie atomică în domeniul UV şi vizibil se utilizează drept surse de radiaţii lămpi cu catod cavitar şi lămpi cu descărcare fără electrozi. În fig. 1.16 se prezintă schema unei lămpi cu catod cavitar. Ea este constituită dintr-un tub de sticlă cu o fereastră transparentă pentru radiaţiile emise. În interior se găsesc catodul, prevăzut cu o cavitate şi anodul, constituit, de exemplu, dintr-un fir metalic, plasat alături de catod.



Fig. 1.16. Schema unei lămpi cu catod cavitar.

În interiorul lămpii se găseşte un gaz inert ultrapur, de obicei neon, la presiune scăzută, de câţiva torri. Între electrozi se aplică o tensiune de până la 300 V, curentul având valori de până la 30 mA. Lampa funcţionează ca un tub de descărcare în gaze la presiune scăzută. Ionii pozitivi ai gazului inert rezultaţi în urma descărcării sunt acceleraţi de câmpul electric şi bombardează catodul. În interiorul cavităţii catodului se realizează o concentraţie mare de ioni ce lovesc peretele interior al acestuia, determinând smulgerea unor atomi din catod. Cavitatea din catod are deci rolul de a concentra descărcarea în interiorul ei. Atomii smulşi sunt antrenaţi în plasma formată de descărcare. Ei sunt excitaţi prin ciocnire cu atomi excitaţi ai gazului inert, emiţând spectrul atomic caracteristic. Datorită acestui proces, lămpile cu catod cavitar au o viaţă limitată, catodul consumându-se, atomii smulşi din catod depunându-se în lampă.

Pentru fiecare element de analizat este necesară o lampă cu catod cavitar, ceea ce poate constitui un dezavantaj al spectrometriei de absorbţie atomică. S-au realizat şi lămpi cu catod cavitar multielement, în acest caz catodul fiind realizat de obicei dintr-un aliaj. Radiaţiile emise vor proveni de la toate elementele ce constituie aliajul. Au dezavantajul că intensitatea radiaţiilor emise este mai mică, comparativ cu cele emise de o lampă monoelement.

Lămpile cu descărcare fără electrozi sunt constituite din tuburi de cuarţ (aproximativ 1 cm diametru, 7 cm lungime) închise ermetic, ce conţin un gaz inert (argon) la presiune scăzută, câteva miligrame din elementul respectiv şi o cantitate mică de iod. Excitarea se realizează introducând lampa în cavitatea unui generator de microunde (2450 MHz, 200 W). Va avea loc o descărcare în gaz datorită accelerării ionilor şi electronilor de către câmpul electromagnetic. Nu sunt necesari

electrozi pentru realizarea descărcării.

Lămpile cu descărcare fără electrozi sunt realizate în special pentru elementele mai volatile: arsen, plumb, cadmiu, staniu etc. Ele sunt mai scumpe decât cele cu catod cavitar, dar intensitatea radiaţiilor emise şi timpul de viaţă al acestora sunt mai mari.

Surse de radiaţii utilizate în spectrometria de absorbţie moleculară

Aceste surse constau dintr-un material care este excitat la stări cu energie ridicată printr-o descărcare electrică la tensiune mare sau prin încălzire electrică. Prin revenirea materialului la stări cu energie mai mică sau la starea fundamentală are loc o emisie de radiaţie electromagnetică. Unele materiale au niveluri energetice atât de numeroase şi care sunt atât de apropiate unele de altele încât radiaţia emisă se prezintă ca o radiaţie continuă într-un anumit domeniu de lungimi de undă.

Pentru domeniul UV al spectrului, cele mai utilizate surse sunt lămpile de hidrogen sau deuteriu. Ele sunt lămpi cu descărcare în gaze şi emit o radiaţie continuă în domeniul 180-350 nm.

Pentru domeniul vizibil şi infraroşu apropiat se utilizează lămpi cu filament de wolfram, filament care este alimentat de o sursă stabilizată de curent continuu. Radiaţia continuă emisă este în domeniul 350-2500 nm.

Pentru domeniul infraroşu al spectrului sunt utilizate: sursa Globar, o baghetă de carbură de siliciu (6-8 mm diametru şi aproximativ 5 cm lungime), sursa Nernst constituită dintr-un amestec de oxizi de zirconiu, ytriu şi toriu sinterizaţi sub forma unei baghete (1-3 mm diametru şi 2-5 cm lungime) goală în interior şi având un fir de platină pentru amorsare, sursa Nicrom realizată sub forma unor spire foarte apropiate din sârmă de aliaj nichel-crom.

În toate aceste surse, emisia are loc datorită efectului termic produs la trecerea curentului electric prin materialul din care sunt constituite. Ele emit radiaţii utilizabile în anumite zone caracteristice ale domeniului IR (fig. 1.15).

1.2.3. Sisteme de separare a radiaţiilor în funcţie de lungimea de undă

Separarea radiaţiilor de mai multe lungimi de undă ale unei surse în benzi înguste sau chiar în radiaţii monocromatice se poate face utilizând filtre sau monocromatoare.

Filtrele sunt de absorbţie sau interferenţiale. Filtrele de absorbţie permit selectarea unei anumite benzi spectrale prin absorbţia radiaţiilor de alte lungimi de undă. Absorbţia se realizează de către substanţe colorate fixate în gelatină, sticlă, material plastic sau care sunt sub formă de soluţie.

Un filtru este caracterizat prin lăţimea efectivă a benzii ce reprezintă domeniul de lungimi de undă pentru care transmitanţa este cel puţin jumătate din

valoarea maximă. Filtrele colorate permit transmiterea radiaţiilor cu o lăţime a benzii spectrale efective cuprinsă în mod obişnuit între 20 şi 50 nm.

Filtrele interferenţiale constau din unul sau mai multe straturi alăturate de dielectric transparent acoperite pe ambele feţe cu un film metalic semitransparent şi parţial reflectant de obicei argint. Grosimea stratului de dielectric este bine determinată, fiind de ½, 1 sau 3/2 din lungimea de undă a radiaţiei transmise; o parte din radiaţie va trece prin filtru neafectată, iar o altă parte va suferi mai întâi o reflecţie între cele două straturi de film metalic ce acoperă dielectricul. Cele două radiaţii vor interfera constructiv sau distructiv. Va fi transmisă numai radiaţia cu lungimea de undă ce permite o interferenţă constructivă. Lărgimea efectivă a benzii spectrale transmise de filtrele interferenţiale este de ordinul 5-10 nm iar pentru cele cu un număr mare de straturi poate ajunge chiar la fracţiuni de nm.

Monocromatoarele separă radiaţiile policromatice în funcţie de lungimea de undă permiţând obţinerea unor radiaţii cu o bandă spectrală foarte îngustă, practic monocromatică. Componentele unui monocromator sunt: 1) o fantă de intrare prin care pătrunde radiaţia monocromatică de la sursă, 2) un colimator cu una sau mai multe lentile, sau cu o oglindă concavă, 3) un sistem de dispersie, prismă sau reţea de difracţie care separă radiaţiile în funcţie de lungimea de undă, 4) un sistem de focalizare alcătuit din una sau mai multe lentile, sau o oglindă concavă şi 5) o fantă de ieşire care izolează banda spectrală dorită blocând toate celelalte radiaţii. În fig. 1.17 se prezintă schemele unor monocromatoare cu prismă şi reţea.

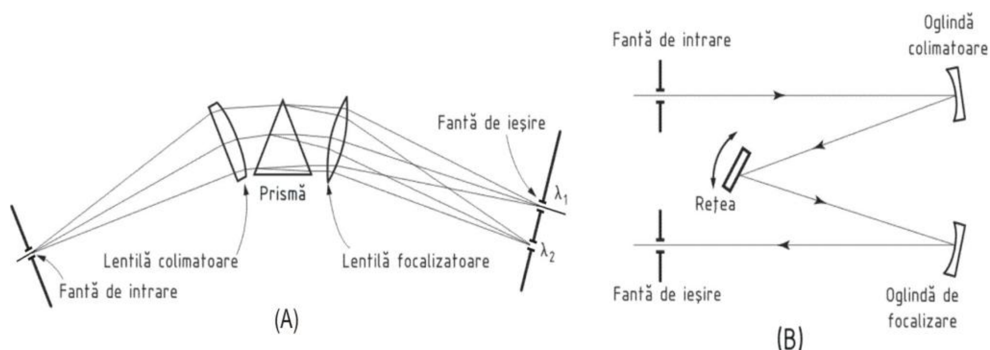


Fig. 1.17. Schemele unor monocromatoare: A) cu prismă; B) cu reţea.

Banda efectivă a radiaţiei ce părăseşte monocromatorul depinde în principal de elementul dispersiv utilizat şi de lărgimea fantelor atât de la intrarea cât şi de la ieşirea acestuia. Folosirea unor fante înguste izolează benzi spectrale înguste, practic monocromatice. Dar acestea limitează şi intensitatea radiaţiei ce ajunge la detector, care nu poate funcţiona satisfăcător decât peste o anumită valoare a energiei primite. Lăţimea minimă a benzii spectrale este deci limitată de sensibilitatea detectorului. Se măresc de obicei lăţimile fantelor până la o valoare

satisfăcătoare atât din punct de vedere al lărgimii benzii spectrale cât şi a funcţionării în bune condiţii a detectorului. Un optim se obţine la egalitatea celor două fante.

Sistemele de dispersie sunt caracterizate de: dispersia unghiulară, dispersia liniară şi puterea de rezoluţie.

Dispersia unghiulară este dată de raportul $d\theta/d\lambda$, $d\theta$ fiind unghiul pe care îl fac între ele două radiaţii ce părăsesc sistemul de dispersie şi $d\lambda$ fiind diferenţa de lungime de undă dintre ele.

Dispersia liniară se defineşte în planul de focalizare al spectrului fiind dată de raportul $dl/d\lambda$, dl fiind distanţa între două linii spectrale şi $d\lambda$ diferenţa de lungime de undă dintre ele.

Puterea de rezoluţie este dată de raportul $\lambda/d\lambda$, λ fiind lungimea de undă medie a două linii spectrale plasate alăturat şi pentru care se mai obţine o imagine distinctă şi $d\lambda$ diferenţa dintre lungimile de undă ale acestor linii.

Drept elemente de dispersie se utilizează prisme şi reţele de difracţie.

Prisme. Dispersia în prismă se realizează datorită variaţiei indicelui de refracţie al radiaţiilor în funcţie de lungimea de undă. Frecvent, indicele de refracţie scade cu lungimea de undă, deci unghiul de deviere al radiaţiei este mai mare la lungimi de undă mai mici.

În fig. 1.18 se prezintă modul în care se realizează separarea unei radiaţii policromatice colimate, cu ajutorul unor prisme.

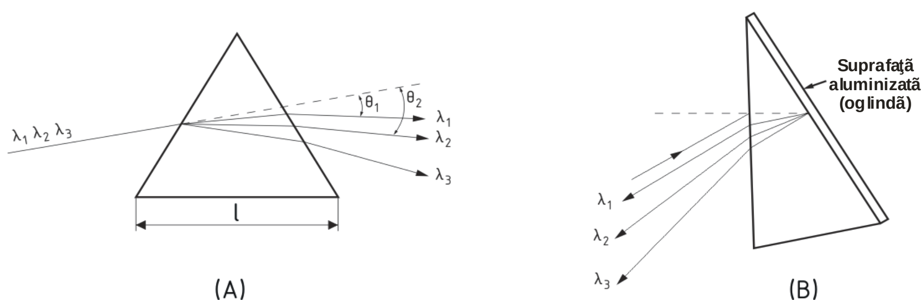


Fig. 1.18. Dispersia unei radiaţii policromatice de către o prismă: A) cu un unghi de 60^o; B) de către o prismă Littrow.

Dispersia unghiulară a prismei este mai mare pentru lungimile de undă apropiate de benzile sale de absorbţie. Dacă materialul unei prisme absoarbe radiaţii din domeniul UV, dispersia creşte cu scăderea lungimii de undă. În domeniul IR prismele absorb de obicei radiaţii la lungimi de undă mai mari şi în mod corespunzător dispersia creşte cu lungimea de undă.

Puterea de rezoluţie a prismelor este dată de relaţia:

$$R_p = \frac{\lambda}{d\lambda} = t\frac{dn}{d\lambda} \quad (1.19)$$

unde *t* este baza prismei, iar d*n*/dλ este dispersia indicelui de refracţie.

Puterea de rezoluţie este limitată de lungimea bazei prismei şi de puterea de dispersie a materialului d*n*/dλ care nu este constantă, fiind funcţie de lungimea de undă.

Utilizarea unei prisme într-un montaj de tip Littrow (fig. 1.19B) prezintă avantajul unui grad mai mare de dispersie, şi în plus, este evitată dubla refracţie atunci când se foloseşte un material anizotropic, cum este cuarţul. Oglinda din montajul de tip Littrow poate fi constituită dintr-un material metalic dispus chiar pe prismă (după cum se vede din fig. 1.19B).

Materialele din care sunt realizate prismele depind de domeniul spectral în care acestea se utilizează. Ele trebuie să fie transparente şi să aibă o dispersie suficient de mare.

Pentru domeniul UV se utilizează prisme din cuarţ sau dioxid de siliciu topit, care sunt transparente până la aproximativ 200 nm. Fluoritul (CaF_2) este transparent până la 125 nm putând fi utilizat în ultravioletul de vid. Pentru domeniul vizibil şi IR apropiat prismele se fac din sticlă de diferite calităţi.

În domeniul infraroşu se utilizează materiale cristaline ionice. În fig. 1.15 sunt prezentate câteva dintre aceste materiale şi domeniile de numere de undă (cu aproximaţie) în care acestea pot fi utilizate cu cele mai bune rezultate: fluoritul, CaF_2, între 1600 şi 1250 cm^{-1}, clorura de sodiu între 625 şi 4000 cm^{-1}, bromura de potasiu între 700 şi 400 cm^{-1}, KRS-5 (un cristal mixt de bromură şi iodură de taliu) şi bromura de cesiu în domeniul 425-280 cm^{-1}, iodura de cesiu este utilizabilă până la 180 cm^{-1}. Sub această valoare de obicei se folosesc reţele de difracţie ca sisteme de dispersie.

Reţele de difracţie. Reţelele de difracţie pot fi prin transmisie sau prin reflexie. În fig. 1.20 se prezintă drumul parcurs de radiaţii în cazul unei reţele de difracţie prin reflexie.

Suprafaţa reţelei este puternic reflectorizantă şi prezintă un mare număr de şanţuri (zgârieturi) echidistante, în mod obişnuit 600-2000 pe mm, în funcţie de domeniul spectral în care se utilizează.Radiaţiile reflectate de reţeaua de difracţie suferă un fenomen de interferenţă pozitivă sau negativă în funcţie de lungimea de undă a acestora şi de diferenţa de drum străbătută. Diferenţa de drum este dată de diferenţa BC – AD = d(sin i – sin θ). Totuşi, θ este considerat un unghi negativ astfel că diferenţa de drum este d(sin i + sin θ).

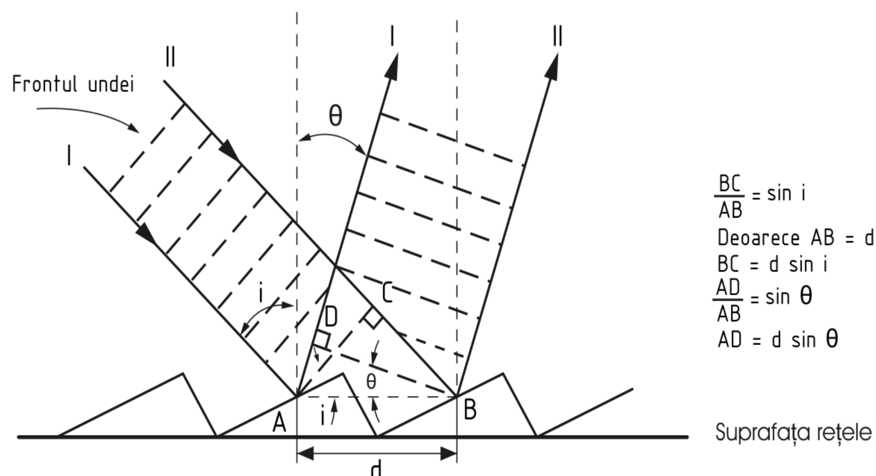


Fig. 1.19. Drumul parcurs de radiaţii pentru o reţea de difracţie prin reflexie.

Pentru o interferenţă constructivă a radiaţiei reflectate este necesar ca:

$$n\lambda = d(sin\, i + sin\, \theta) \qquad (1.20)$$

unde *n* este un număr întreg. O radiaţie de o anumită lungime de undă care este reflectată de o reţea de difracţie pentru un unghi de incidenţă *i*, poate suferi o interferenţă constructivă pentru mai multe unghiuri θ, formându-se astfel spectre de diferite ordine. Cele mai intense radiaţii aparţin ordinului întâi, intensitatea radiaţiilor scăzând cu ordinul spectrului.

Separarea radiaţiilor se face prin rotirea reţelei de difracţie. În faţa fantei de ieşire a monocromatorului fiind aduse radiaţiile de diferite lungimi de undă ce aparţin spectrului de ordinul 1.

Reţelele de difracţie prezintă, spre deosebire de prisme, o dispersie unghiulară liniară pe întreg domeniul de lungimi de undă utilizat, ceea ce constituie un avantaj.

1.2.4. Detectori de radiaţii

Un detector de radiaţii absoarbe energia fotonilor recepţionaţi şi o transformă într-o cantitate măsurabilă, ca de exemplu înnegrirea unei plăci fotografice sau un curent electric. Orice detector trebuie să genereze un semnal care să poată fi corelat cantitativ cu intensitatea radiaţiei recepţionate.

Zgomotul de fond al unui detector se referă la răspunsul detectorului, înregistrat chiar în absenţa unei radiaţii recepţionate şi la fluctuaţiile aleatoare ale răspunsului detectorului.

Cerinţele cele mai importante pentru un detector sunt: 1) sensibilitate mare şi un zgomot de fond cât mai mic, 2) timp scurt de răspuns, 3) stabilitatea răspunsului în timp, 4) dependenţă liniară între răspunsul detectorului şi intensitatea radiaţiei recepţionate. Este preferat răspunsul electric al detectorului, care este mai uşor de amplificat.

Detectori utilizaţi în domeniul UV şi vizibil

În domeniul ultraviolet şi vizibil, drept detectori de radiaţii se pot utiliza detectori fotoelectrici, detectori fotografici şi, în domeniul vizibil, ochiul omenesc.

În aparatele moderne nu se mai utilizează ochiul omenesc drept detector de radiaţii. Detectorii fotografici nu sunt utilizaţi în spectrometria de absorbţie, ei îşi găsesc utilizări în spectrometria de emisie şi vor fi prezentaţi la acel capitol.

Detectori fotoelectrici

Fotonii radiaţiilor din domeniul ultraviolet şi vizibil au o energie suficientă pentru a determina o emisie de electroni (efect fotoelectric) atunci când ei lovesc o suprafaţă tratată cu anumiţi compuşi specifici. Absorbţia acestui tip de fotoni poate determina de asemenea pentru anumiţi semiconductori, deplasarea electronilor legaţi, neconductivi, în benzi conductive. Ambele procese generează sau permit trecerea unui curent electric care este funcţie de intensitatea radiaţiei absorbite.

Detectorii care funcţionează pe baza acestor principii se numesc detectori fotoelectrici. Aceştia sunt de următoarele tipuri: celule fotovoltaice, celule fotoemisive, celule fotoconductive (fotodiode) şi tuburi fotomultiplicatoare.

Celulele fotovoltaice sunt cele mai simple, la iluminare ele generează un curent electric care poate acţiona direct, fără amplificare, un instrument de măsură. Răspunsul lor nu este prea stabil şi timpul de răspuns este destul de lung.

Celulele fotoemisive constau dintr-un tub de sticlă vidat în care se găsesc un anod şi un catod fotoemisiv pe care cade radiaţia a cărei intensitate o măsurăm. Între cei doi electrozi se aplică o diferenţă de potenţial. Electronii smulşi din catod prin efect fotoelectric determină trecerea curentului prin celulă, la iluminarea acesteia.

Un tub multiplicator, prezentat în fig. 1.20, constă dintr-un catod fotoemisiv şi o succesiune de electrozi (dinode) care prezintă capacitatea emisiei secundare de electroni.

Între electrozii adiacenţi se aplică o diferenţă de potenţial de ordinul 75-100 V. Radiaţia incidentă smulge fotoelectroni din catod. Electronii smulşi sunt focalizaţi de câmpul electrostatic şi sunt acceleraţi spre primul electrod acoperit cu un compus (BeO, CsSb) care permite emisia mai multor electroni pentru fiecare electron incident. Procesul se repetă pentru ceilalţi electroni. Electronii rezultaţi sunt colectaţi apoi de anod.

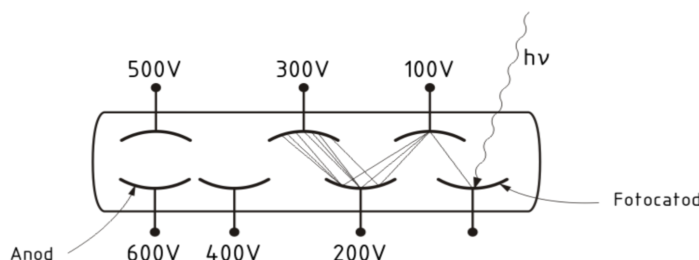


Fig.1.20. Schema unui tub fotomultiplicator.

Tuburile fotomultiplicatoare prezintă marele avantaj că permit o amplificare a semnalului de ordinul 10^6, chiar în interiorul lor, amplificare ce poate fi reglată pe baza diferenţei de potenţial dintre electrozi.

Celulele fotoconductive sunt de fapt semiconductori (germaniu dopat cu aur, telurură de plumb, sulfură de plumb). Prin absorbţia unor radiaţii cu lungimi de undă adecvate, electronii semiconductorului sunt trecuţi în benzi conductive. Rezistenţa electrică a celulei va scădea, iar sub influenţa unei diferenţe de potenţial va avea loc o creştere accentuată a curentului ce trece prin celulă.

Detectori utilizaţi în domeniul IR

În acest domeniu spectral se utilizează în special detectori termici. Energia radiaţiilor este transformată în energie termică, măsurându-se apoi variaţiile de temperatură. Pentru aceasta se utilizează termocuple, termorezistenţe (termistori) şi celule pneumatice (Golay).

Funcţionarea termocuplelor se bazează pe apariţia unei diferenţe de potenţial funcţie de temperatură, între doi conductori din metale diferite puşi în contact. Termorezistenţele sunt rezistenţe care prezintă un coeficient mare de variaţie al rezistivităţii cu temperatura, putând astfel sesiza variaţii foarte mici de temperatură. În cazul celulelor pneumatice se măsoară variaţia unui volum închis de gaz sub influenţa temperaturii. Partea activă a oricărui detector termic trebuie să fie cât mai mică pentru ca variaţiile de temperatură să fie cât mai mari la absorbţia radiaţiei infraroşii. Principalul lor dezavantaj este timpul de răspuns lung (milisecunde) şi sensibilitatea redusă în comparaţie cu alte tipuri de detectoare.

1.2.5. Sisteme de evaluare

Semnalul electric furnizat de un detector poate fi măsurat fără amplificare, dar de cele mai multe ori este necesară o amplificare a acestuia.

Se poate citi direct valoarea semnalului măsurat pe scala instrumentului de măsură, sau instrumentul de măsură poate acţiona numai ca instrument de nul, realizându-se o compensare a semnalului dat de detector fie pe cale electrică (cu

ajutorul unui potenţiometru), fie pe cale optică (cu ajutorul unei pene optice sau a unei diafragme reglabile); în acest caz, mărimea se măsoară în unităţi de compensare pe scala potenţiometrului sau a sistemului optic.

În aparatele moderne sistemul de evaluare se bazează în mare măsură pe utilizarea calculatoarelor care pot prelua semnalul de la amplificator, îl compară cu semnalele corespunzătoare ale unor probe etalon, stocate în memorie, iar apoi ne dau direct datele analitice.

Sisteme monofascicul şi cu două fascicule utilizate în spectrometria de absorbţie

Deşi toate aparatele spectrometrice de absorbţie au părţile componente prezentate în fig. 14, totuşi sunt multe deosebiri între ele, depinzând de producător, domeniul spectral pentru care a fost concepute, rezoluţia acestora etc. Fără a intra în detalii, vom discuta în continuare numai modurile generale de operare ale unui spectrometru de absorbţie.

Sisteme monofascicul

Un fascicul de radiaţii de la o sursă pătrunde în monocromator, unde este dispersat de prismă sau reţea. Prin rotirea sistemului de separare a radiaţiilor, în faţa fantei de ieşire a monocromatorului sunt focalizate radiaţii de diferite lungimi de undă. În cazul spectrometriei de absorbţie, înainte de a ajunge la detector, radiaţiile trec prin proba de analizat. Absorbţia radiaţiei de către probă se determină fie măsurând intensitatea fasciculului transmis în prezenţa şi absenţa probei, fie faţă de o probă de referinţă (de comparaţie) care conţine de obicei toţi componenţii probei cu excepţia aceluia a cărui absorbanţă o măsurăm.

In cazul spectrometriei de emisie radiaţiile emise de probă sunt separate de monocromator iar apoi ajung direct la detector unde li se măsoară intensitatea.

Sisteme cu două fascicule

În instrumentele cu două fascicule se realizează cu ajutorul unui dispozitiv optic o separare a radiaţiilor provenite de la sursă în două fascicule. Un fascicul este trecut prin proba de referinţă, iar celălalt prin proba de analizat. Intensităţile celor două fascicule sunt apoi comparate, fie continuu, fie alternativ, de mai multe ori pe secundă. Astfel, în cazul instrumentelor cu două fascicule are loc o compensare a fluctuaţiilor intensităţii sursei, a răspunsului detectorului şi a amplificării, măsurându-se numai diferenţa celor două semnale.

În fig. 1.21 se prezintă schema unui instrument cu două fascicule ce funcţionează pe baza principiului prezentat:

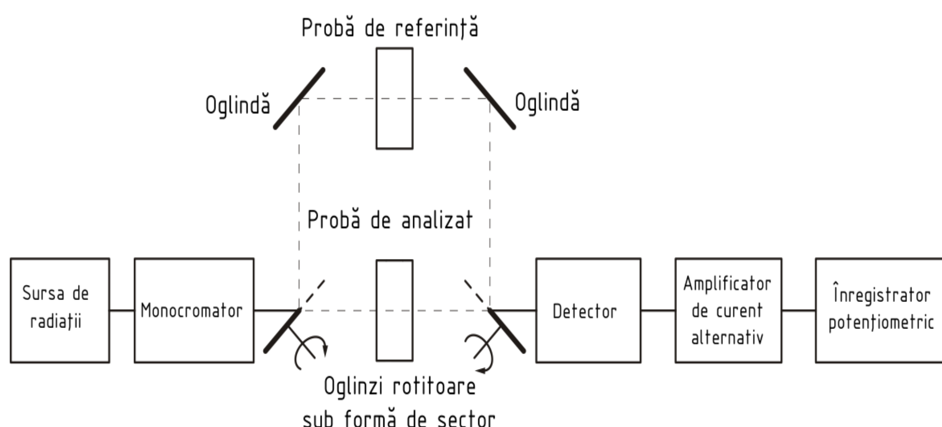


Fig. 1.21. Schema unui spectrometru cu două fascicule.

Fasciculele de radiaţii ce trec prin proba de referinţă şi proba de analizat ajung alternativ la detector la intervale de timp care depind de frecvenţa de rotaţie a oglinzilor. Instrumentul înregistrează raportul celor două semnale. Dacă intensitatea celor două fascicule este identică, amplificatorul nu generează nici un semnal. Atunci când cele două intensităţi sunt diferite, semnalul amplificat poate acţiona un servomotor care pune în mişcare un înregistrator potenţiometric; acesta este astfel calibrat încât să ne indice transmitanţa sau absorbanţa corespunzătoare probei de analizat. Cu ajutorul unui dispozitiv mecanic ce roteşte sistemul de dispersie şi totodată deplasează banda de hârtie a înregistratorului se poate obţine spectrul de absorbţie al probei. Aparatele cu dublu fascicul permit obţinerea într-un timp scurt a spectrului de absorbţie al probei.

In ultimii ani s-au realizat progrese foarte mari in construcţia de aparatură analitică. Spectrometrele moderne cu unul sau două fascicule sunt controlate de un calculator care uşureaza foarte mult operarea acestora, spectrele de absorbţie sau valorile măsurate fiind afişate pe monitor.

1.3. SPECTROMETRIA DE EMISIE ATOMICĂ ÎN ARC, SCÂNTEIE ELECTRICĂ ŞI PLASMĂ

Principiul metodei constă în vaporizarea şi excitarea atomilor probei de analizat, separarea radiaţiilor emise în funcţie de lungimea de undă, înregistrarea lor, urmată de interpretarea semnalelor obţinute.

Vaporizarea şi excitarea atomilor se poate face în arc electric, în scânteie electrică, în plasmă (cea mai utilizată fiind cea de argon cuplată inductiv) sau cu un fascicul laser.

După separarea radiaţiilor emise cu ajutorul unui monocromator, acestea sunt focalizate pe detectorul de radiaţii care este de obicei un detector fotoelectric, dar care poate fi şi o placă fotografică.

Analiza calitativă se face pe baza poziţiilor în spectru (a lungimilor de undă) a radiaţiilor emise, fiecare element emiţând un spectru caracteristic. Analiza cantitativă se face prin măsurarea intensităţii radiaţiilor emise.

Acest tip de analiză se aplică în primul rând la determinarea unor metale. La folosirea arcului sau scânteii electrice ca sursă de vaporizare sau excitare, sunt analizate în special probe solide iar la folosirea plasmei, probe lichide.

1.3.1. Principiul aparaturii

Surse de vaporizare şi excitare

Arcul electric

Poate fi de curent continuu de joasă tensiune (10-25 V, 5-30 A) sau de înaltă tensiune (1200 V, 0,2-0,3 A). Vaporizarea se produce datorită încălzirii ce are loc la trecerea curentului electric. Temperatura arcului de curent continuu este de ordinul 4000-6500 ^{o}C. Excitarea atomilor probei se datorează atât energiei termice, cât şi energiei electrice şi este rezultatul unor ciocniri între atomi, ioni, electroni de mare energie.

În arcul electric de curent continuu electrozii nu se consumă uniform. De asemenea, arcul electric nu este stabil şi aceasta face ca intensitatea radiaţiilor emise să nu fie constantă. Într-un spectru de arc intensităţile relative ale radiaţiilor emise de atomii diferitelor elemente nu sunt constante, aceasta deoarece volatilizarea este selectivă, substanţele cu temperatură de topire ridicată volatilizându-se după cele cu temperatură de topire coborâtă.

În anumite cazuri, aceasta poate constitui un avantaj, putându-se determina selectiv din aceeaşi probă elemente cu volatilităţi diferite.

Arcul de curent alternativ ca sursă de vaporizare şi excitare se aseamănă în multe privinţe cu arcul de curent continuu. În acest caz, schimbarea polarităţii electrozilor în ritmul frecvenţei curentului alternativ permite o ameliorare sensibilă

a reproductibilităţii excitării. În arc electric se obţin spectrele atomilor şi în mai mică măsură spectrele ionilor. Datorită instabilităţii lor, ele se folosesc mai ales la analiza cantitativă şi semicantitativă.

Intensitatea emisiei atomice în arcul electric depinde de matricea probei (de prezenţa celorlalţi componenţi ai probei). Din acest motiv, probele de analizat şi standardele trebuie să fie cât mai asemănătoare nu numai în privinţa compoziţiei chimice cât şi a constituţiei fizice. Acest lucru este valabil şi pentru alte surse de vaporizare şi excitare.

Dacă arcul este produs între electrozi de carbon, în aer, se formează şi molecule de dician care sunt excitate de arc, emiţând radiaţii sub forma unor benzi moleculare în domeniul 360-420 nm care se suprapun peste spectrul probei.

Scânteia electrică

Este o descărcare scurtă şi oscilantă între doi electrozi aflaţi la o mare diferenţă de potenţial (10.000-50.000 V). Temperatura scânteii electrice este de ordinul 10.000-30.000 ^{o}C. Scânteia electrică se poate realiza cu un montaj prezentat în fig. 1. 22.

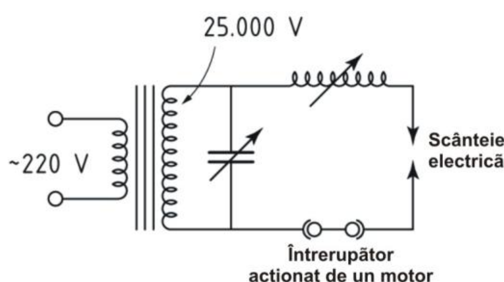


Fig. 1.22. Schema montajului Feussner de alimentare a scânteii electrice.

Frecvenţa oscilaţiilor scânteii este dată de relaţia:

$$\nu = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{1}{LC}} \tag{1.21}$$

unde L şi C reprezintă inductanţa, respectiv capacitatea din circuit.

Oscilaţiile sunt amortizate şi determină o schimbare a polarităţii electrozilor în timpul unor impulsuri foarte scurte ($10^{-4} - 10^{-5}$ s) care se produc de 1000-2000 ori/s. Durata unei singure scântei este foarte mică iar timpul între descărcări este relativ lung. Aceasta permite electrozilor să se răcească între descărcări, temperatura lor crescând foarte puţin faţă de temperatura ambiantă. Fenomenul de

volatilizare fracţionată a diferitelor elemente va fi mult mai redus comparativ cu arcul electric.

Pentru a asigura o mai mare stabilitate a emisiei spectrale, Feussner a introdus în circuit un întrerupător mecanic acţionat de un motor sincron. Circuitul este închis numai pentru scurt timp la valoarea maximă a intensităţii curentului pentru fiecare semiperioadă. Condensatorul se va descărca la aceeaşi tensiune de încărcare, iar scânteia va avea un caracter mult mai reproductibil.

Energia mare a scânteii determină o populare şi a nivelurilor energetice cu energie înaltă ale atomilor. Din acest motiv, în scânteie se obţin atât spectrele atomilor cât şi ale ionilor, spectrele fiind mai complexe decât cele obţinute în arc electric.

Scânteia electrică este o sursă de excitare care ne dă o mai mare precizie şi stabilitate decât arcul electric, putând fi folosită cu rezultate bune în analiza cantitativă.

Electrozii între care are loc arcul sau scânteia electrică sunt constituiţi chiar din proba de analizat atunci când aceasta este bună conducătoare de electricitate (fig. 1.23a şi 123b). Pentru analiza unor soluţii se pot utiliza electrozi de forma celor prezentaţi în fig. 1.23c şi 1.23d. Dacă proba nu este bună conducătoare de electricitate, ea este transformată în pulbere, apoi este amestecată cu un liant şi este introdusă în cavitatea unui electrod de grafit (fig. 1.23e). Grafitul are avantajul că are un spectru simplu şi creează o atmosferă reducătoare ce nu permite formarea oxizilor.

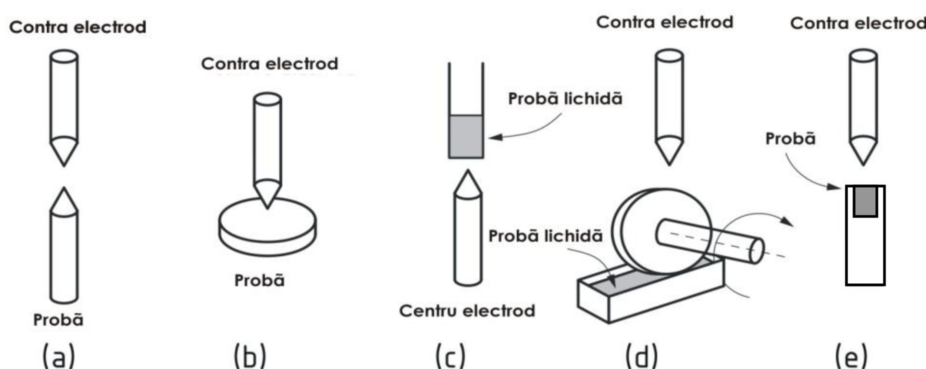


Fig. 1.23. Tipuri de electrozi folosiţi la utilizarea arcului sau scânteii electrice ca sursă de vaporizare şi excitare. (a) şi (b) – analiza unor probe bune conducătoare de electricitate; (c) şi (d) – analiza unor probe lichide; (e) – analiza unor probe care au conductibilitate electrică mică.

Un fascicul laser

Poate fi folosit la analiza unor zone foarte mici de pe suprafaţa unei probe. Fasciculul laser, focalizat cu ajutorul unui microscop în zona de analizat, vaporizează o cantitate mică de probă, dând naştere unui crater semisferic cu

diametrul de ordinul 50 μm. Atomii din vaporii rezultaţi sunt apoi excitaţi cu ajutorul unei scântei electrice produsă între doi electroni plasaţi deasupra probei. Această tehnică poartă numele de *microanaliză spectrală cu laser*. Metoda permite analiza interiorului celulelor individuale chiar în organismele vii. Se pot analiza de asemenea incluziuni în metale şi minereuri.

Plasma

Ca sursă de excitare a atomilor probei, plasma prezintă avantaje faţă de arcul sau scânteia electrică. Temperatura plasmei este de ordinul 9000 K. Spectrul obţinut este foarte bogat în linii deoarece tranziţiile electronice ce pot avea loc sunt foarte numeroase. Aceasta însă face să crească posibilitatea interferenţelor spectrale. Din acest motiv, spectrometrul utilizat trebuie să aibă o rezoluţie înaltă. Sensibilitatea şi exactitatea sunt foarte bune. Intensitatea radiaţiei emise de un element este funcţie liniară de concentraţie într-un interval larg (4 sau mai multe ordine de mărime). Pot fi analizate probe gazoase sau lichide (în unele cazuri şi probe solide pulverulente).

Torţa de plasmă de argon cuplată inductiv

Este un tip special de plasmă care este alimentată cu energie prin inducţie de la un câmp magnetic de înaltă frecvenţă (radiofrecvenţă). Plasma care este un gaz parţial ionizat este formată electromagnetic, în urma cuplării prin inducţie a argonului ionizat cu un câmp de înaltă frecvenţă.

În fig. 1.24 se prezintă schematic o torţă de plasmă de argon cuplată inductiv. Ea este constituită din trei tuburi concentrice de cuarţ, tuburile interioare fiind mai scurte. În jurul tubului exterior în partea superioară, sunt două spire de inducţie (răcite cu apă) ale unui generator de radiofrecvenţa (până la 2 kW şi în jur de 25 MHz). Prin tubul central se introduce proba sub formă de aerosol.

Pentru a pune în funcţiune torţa se introduce un flux de argon între tuburile concentrice. Apoi se iniţiază ionizarea argonului cu ajutorul unor scântei electrice. Ionii şi electronii rezultaţi vor interacţiona cu câmpul magnetic oscilant (notat cu *H*) produs de spirele de inducţie. Plasma de argon conţine mulţi electroni liberi, ea este un conductor electric bun şi va interacţiona uşor cu câmpul magnetic. Aceasta va induce circulaţia unor curenţi electrici turbionari în plasma formată, ceea ce va avea ca rezultat creşterea temperaturii. Transferul energetic între spirele de inducţie şi plasmă este asemănător cu transferul de energie dintr-un transformator electric, cele două spire de inducţie corespunzând înfăşurării primare iar curenţii turbionari din plasmă corespunzând unei singure spire a secundarului.

Plasma formată are aspectul unei flăcări în partea superioară a tubului de cuarţ. Deoarece temperatura acesteia este foarte ridicată, aprox. 9000 K, este necesar ca ea să fie izolată de tubul de cuarţ. Aceasta se realizează printr-un curent de argon care circulă tangenţial între tuburile concentrice (fig. 1.24) ceea ce determină totodată o modificare a formei sferice a plasmei prin aplatizarea bazei sale.

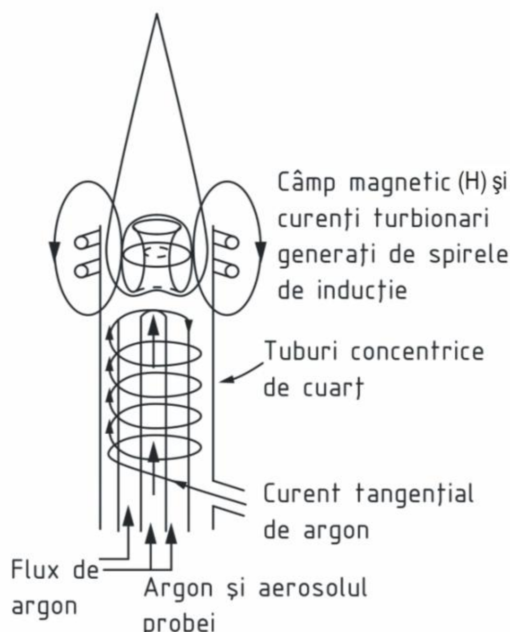


Fig. 1.24. Schema unei torţe de plasmă cuplată inductiv.

Introducerea probei prin tubul central schimbă de asemenea aspectul plasmei, din centrul acesteia formându-se o flacără îngustă şi înaltă, bine definită, care constituie sursa de radiaţii propriu-zisă.

Radiaţiile emise în sursele de excitare sunt separate în funcţie de lungimea de undă utilizând monocromatoare cu prismă sau reţea (prezentate în capitolul 1.2.3).

Detectori de radiaţii

Se pot folosi detectori de radiaţii fotoelectrici (prezentaţi la capitolul 1.2.4) sau detectori fotografici (ce vor fi prezentaţi mai jos).

Aparatele ce utilizează drept detectori de radiaţii plăci fotografice se numesc în general spectrografe, iar cele ce utilizează detectori fotoelectrici se numesc în general spectrometre.

Detectori fotografici

Aceştia servesc atât la detecţia cât şi la înregistrarea radiaţiilor. Se utilizează plăci fotografice, care constau dintr-o placă de sticlă sau material plastic pe care s-a depus o emulsie fotosensibilă de halogenură de argint.

Spectrele de emisie atomică vor apărea sub forma unor linii cu o înnegrire mai puternică sau mai slabă în funcţie de intensitatea lor. Ca o măsură a acestei înnegriri se foloseşte densitatea de înnegrire, *D*, definită prin relaţia:

$$D = log \frac{I_o}{I} = log \frac{1}{T} \qquad (1.22)$$

în care:

I_0 este intensitatea unui fascicul luminos incident produs de o sursă (lumină albă produsă de un bec cu incandescenţă) iar *I* este intensitatea aceluiaşi fascicul după trecerea prin regiunea plăcii pe care s-a înregistrat radiaţia. Densitatea de înnegrire se măsoară cu ajutorul unor dispozitive optice numite microfotometre.

Produsul dintre intensitatea radiaţiei ce determină formarea unei imagini fotografice şi timpul cât aceasta acţionează se numeşte expunere, notată cu *E*:

$$E = It \tag{1.23}$$

Reprezentând *D* funcţie de log *E* obţinem curba caracteristică de înnegrire a plăcii fotografice (fig. 1.25).

D_0 este înnegrirea corespunzătoare voalului plăcii şi se obţine la developare pe porţiunea unde placa nu a fost iluminată.

Pentru determinări cantitative este necesar să ne situăm pe porţiunea liniară a curbei caracteristice de înnegrire a plăcii fotografice pentru care este o dependenţă liniară între *D* şi log *E*, dată de relaţia:

$$D = \gamma \log E - g \tag{1.24}$$

unde γ = tg α este panta dreptei iar *g* este inerţia emulsiei.

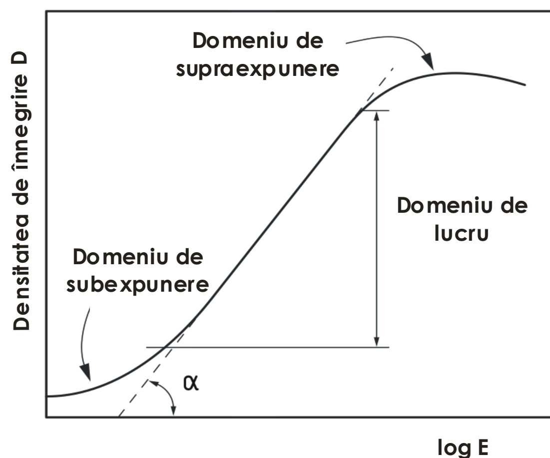


Fig. 1.25. Curba caracteristică de înnegrire a unei plăci fotografice.

Schema unui spectrograf cu prismă este prezentată în fig. 1.26.

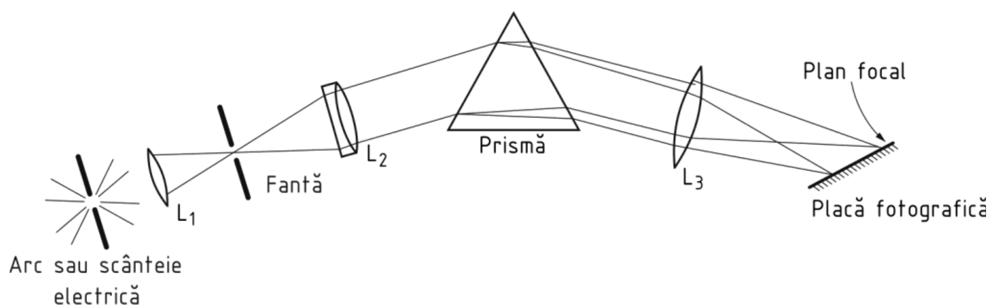


Fig. 1.26. Schema unui spectrograf cu prismă.

Radiaţiile emise de sursa de excitare sunt focalizate de lentila L_1 pe fanta de intrare a aparatului, apoi sunt transformate într-un fascicul paralel de lentila colimatoare L_2, sunt separate în funcţie de lungimea de undă de către prismă şi sunt focalizate de lentila L_3 pe placa fotografică.

Spectrometrele se deosebesc de spectrografe prin faptul că nu se face o înregistrare simultană a întregului spectru, ci se măsoară numai anumite radiaţii cu frecvenţe caracteristice emise de către atomii probei de analizat. Pentru aceasta, în planul focal al monocromatorului, în dreptul unor fante, este plasat pentru fiecare lungime de undă caracteristică câte un detector fotoelectric. In acest mod se pot înregistra simultan intensităţile radiaţiilor emise de un număr mare de specii atomice (de ordinul zecilor) care pot fi astfel determinate simultan.

1.3.2. Analiza calitativă şi semicantitativă

Analiza calitativă

Se face pe baza faptului că radiaţiile emise la anumite lungimi de undă şi ansamblul de radiaţii ce constituie spectrul sunt caracteristice pentru un anumit element.

La utilizarea plăcii fotografice drept detector de radiaţii, spectrul înregistrat este format dintr-o multitudine de linii, fiecărei linii corespunzându-i o radiaţie de o anumită lungime de undă, emisă de un anumit element din proba de analizat.

Cea mai simplă metodă de a face o analiză calitativă constă în compararea spectrului probei de analizat cu un spectru cunoscut, ambele înregistrate alăturat, pe o placă fotografică. Drept spectru faţă de care se determină liniile elementelor de analizat se foloseşte spectrul fierului, care este foarte bogat în linii şi constituie un bun etalon pentru lungimile de undă.

Cu ajutorul unui dispozitiv optic numit spectroproiector se obţine pe un ecran imaginea mărită a spectrelor înregistrate. În continuare, cu ajutorul unor atlase în care este figurat spectrul fierului şi poziţiile liniilor diferitelor elemente intercalate

între liniile fierului se pot atribui liniile spectrale ce apar în proba necunoscută.

O a doua metodă de efectuare a unei analize calitative se bazează pe determinarea exactă a lungimilor de undă ale radiaţiilor emise de elementele din proba de analizat. În acest scop se întrebuinţează un microscop mobil cuplat cu o scală micrometrică (sau un microscop fix şi o placă mobilă cuplată cu un şurub micrometric) care permite observarea directă a spectrului probei şi a spectrului cunoscut. Acest instrument se numeşte microscop comparator. Lungimile de undă ale radiaţiilor determinate astfel vor fi atribuite elementelor de analizat folosind atlase de spectre.

Analiza semicantitativă

Permite determinarea ordinului de mărime al concentraţiilor unor elemente. La utilizarea plăcii fotografice ca receptor de radiaţii se poate face o analiză semicantitativă prin compararea vizuală a spectrului probei cu o serie de spectre etalon, obţinute de la probe sintetice de concentraţie cunoscută şi cu o compoziţie asemănătoare cu a probei de analizat. Prezentăm în continuare următoarele metode de analiză semicantitativă:

- Metoda spectrelor de comparaţie: se înregistrează pe aceeaşi placă fotografică mai multe spectre ale unor probe etalon alături de spectrul probei de analizat şi se compară vizual. Concentraţia unui element în proba necunoscută va fi aproximativ egală cu concentraţia unui element din etalon, pentru care liniile elementului de analizat prezintă înnegriri asemănătoare.
- Metoda diluţiei: se înregistrează spectrul probei de analizat diluată cu praf de grafit în raport cunoscut (de exemplu 1/10, 1/100, 1/1000) şi se compară cu spectrele obţinute pentru anumite probe etalon.
- Metoda sectorului logaritmic: se înregistrează spectrul probei în condiţiile în care un disc dintr-un material opac ce are marginea tăiată după o curbă logaritmică se roteşte în faţa fantei de intrare a spectrografului (fig. 1.27). Deoarece densitatea de înnegrire a plăcii fotografice este funcţie logaritmică de intensitatea radiaţiei (relaţiile (1.23) şi (1.24)), liniile spectrale vor apărea în acest caz sub forma unor pene a căror înălţime va fi proporţională cu concentraţia elementului de analizat. Comparând înălţimea liniilor spectrale astfel înregistrate pentru un etalon şi proba de analizat, se poate evalua semicantitativ concentraţia în proba necunoscută.

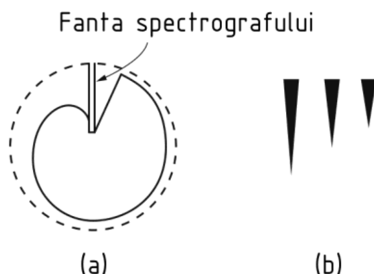


Fig. 1.27. Sectorul logaritmic (a), şi aspectul unei linii înregistrate pentru diferite concentraţii (b).

1.3.3. Analiza cantitativă

Se face determinând intensitatea radiaţiilor emise în funcţie de concentraţia speciei de analizat. Se aleg liniile cele mai intense, mai sensibile şi mai caracteristice ale elementelor de analizat. Intensitatea radiaţiei emise este dată de relaţia:

$$I = ac^b \quad (1.25)$$

unde *I* este intensitatea radiaţiei emise, *c* este concentraţia elementului care emite radiaţiile, *a* este un factor legat de natura elementului şi condiţiile de excitare iar *b* este un factor datorat autoabsorbţiei liniei spectrale ($b \leq 1$). Cu cât autoabsorbţia unei linii spectrale este mai mare cu atât *b* ia valori mai mici. Autoabsorbţia unei linii spectrale creşte cu concentraţia elementului din vaporii atomici care emit linia spectrală respectivă.

Deoarece intensitatea radiaţiilor emise este funcţie de o serie de parametri ai surselor de excitare, greu de reprodus şi de controlat, intensitatea unei linii spectrale se măsoară faţă de intensitatea liniei unui element numit standard sau etalon intern, conţinut de proba de analizat. Condiţiile de excitare fiind aceleaşi pentru ambele elemente, ele nu vor influenţa valoarea raportului între intensităţile celor două linii.

Elementul de analizat ales drept standard intern trebuie să îndeplinească o serie de condiţii. Astfel, este necesar să fie în concentraţie constantă (de obicei mare) atât în etaloane, ce conţin cantităţi cunoscute din elementul de analizat, cât şi în probele de analizat. Linia standardului intern trebuie să fie în vecinătatea celei a elementului de analizat, pentru a evita erorile ce pot apărea datorită variaţiei sensibilităţii detectorului în funcţie de lungimea de undă. Standardul intern trebuie să aibă volatilitate şi condiţii de excitare cât mai apropiate de ale elementului de analizat.

Raportul dintre intensitatea unei radiaţii emise la o anumită lungime de undă

de către elementul de analizat, I_x, şi a radiaţiei emise de standardul intern, I_{st}, va fi dat de relaţia:

$$\frac{I_x}{I_{st}} = \frac{a_x c_x^{b_x}}{a_{st} c_{st}^{b_{st}}} \tag{1.26}$$

notând a_x/a_{st} cu A şi logaritmând, obţinem:

$$log\,\frac{I_x}{I_{st}} = b_x\,log\,c_x + k \tag{1.27}$$

unde $k = \log A - b_{st} \log c_{st}$

Relaţia (1.27) ne arată că între log I_x/I_{st} şi log c_x este o dependenţă liniară. Lucrând cu probe etalon ce au concentraţii cunoscute în elementul de analizat, vom putea trasa un grafic de calibrare reprezentând log I_x/I_{st} funcţie de log c_x pe baza căruia vom putea determina concentraţiile elementului de analizat din probe necunoscute.

La utilizarea sistemelor de detecţie fotoelectrice, radiaţiile emise la anumite lungimi de undă de elementul de analizat şi standardul intern sunt convertite în curent electric care încarcă un circuit de integrare format dintr-un condensator şi o rezistenţă. Tensiunea la care ajunge condensatorul după un anumit timp (sau cantitatea de electricitate înmagazinată) va fi funcţie de intensitatea radiaţiei.

În cazul spectrometrelor performante, prin această metodă se măsoară simultan intensităţile corespunzătoare radiaţiilor emise de un mare număr de elemente. Aceste intensităţi sunt apoi convertite în concentraţii pe baza unor curbe de etalonare de către un calculator, rezultatul fiind dat într-un timp foarte scurt. Precizia determinărilor este bună, eroarea relativă fiind de ordinul 0,5%.

La utilizarea plăcii fotografice ca receptor de radiaţii, se măsoară densitatea de înnegrire D a liniilor spectrale cu ajutorul microfotometrelor. Dacă ne vom plasa pe domeniul liniar al curbei caracteristice de înnegrire a plăcii fotografice (fig. 1.25) vom putea scrie:

$$D_x = \gamma\,log\,E_x - g \tag{1.28}$$

$$D_{st} = \gamma\,log\,E_{st} - g \tag{1.29}$$

$$D_x - D_{st} = \Delta D = \gamma\,log\,\frac{E_x}{E_{st}} \tag{1.30}$$

Dar timpul de expunere este acelaşi pentru linia elementului de analizat şi linia standardului intern, fiind conţinute în acelaşi spectru, deci:

$$\Delta D = D_x - D_{st} = \gamma \log \frac{I_x}{I_{st}} \qquad (1.31)$$

înlocuind pe log I_x/I_{st} cu valoarea dată de relaţia (1.27), obţinem:

$$\frac{\Delta D}{\gamma} = b_x \log c_x + k \qquad (1.32)$$

Reprezentând $\Delta D/\gamma$ în funcţie de log c, pentru probe de concentraţie cunoscută, se va obţine un grafic de etalonare pe baza căruia se vor putea determina concentraţiile unor probe necunoscute.

1.4. SPECTROMETRIA DE EMISIE ÎN FLACĂRĂ

Principiul metodei constă în transformarea în vapori atomici a elementelor de determinat şi excitarea acestora prin introducerea probei de analizat într-o flacără şi separarea radiaţiilor emise în funcţie de lungimea de undă, urmată de înregistrarea şi interpretarea acestora.

Prin această metodă sunt analizate în special probe lichide care sunt introduse în flacără sub formă de aerosoli.

Analiza calitativă se face prin determinarea lungimilor de undă ale radiaţiilor emise, care sunt caracteristice diferitelor specii atomice, iar analiza cantitativă se face prin măsurarea intensităţii acestor radiaţii.

Spectrometria de emisie atomică în flacără se aplică în special pentru analiza unor elemente cu energie de excitare mică, cum ar fi metalele alcaline şi alcalino-pământoase, aceasta deoarece flăcările au temperaturi mai mici decât ale celorlalte surse de excitare folosite în spectrometria de emisie atomică (arcul electric, scânteia electrică sau plasma); totuşi, prin perfecţionarea aparaturii şi prin folosirea unor flăcări calde, spectrometria de emisie atomică a fost extinsă la determinarea unui număr mare de elemente (aproximativ 40).

1.4.1. Flacăra ca sistem de atomizare şi excitare

Proba de analizat este transportată în flacără sub forma unui aerosol. Se poate proceda în două moduri: 1) – comburantul (gazul care întreţine arderea) şi carburantul sunt preamestecate înainte de a ajunge la arzător (transportând proba de analizat sub formă de aerosol); 2) – cele două gaze vin în contact chiar în flacără, în care este pulverizată proba de analizat.

În fig. 1.28 se prezintă schemele unor arzătoare bazate pe cele două modalităţi de lucru; în tabelul 1.3 se prezintă câţiva dintre carburanţii şi comburanţii folosiţi pentru obţinerea flăcărilor utilizate în spectrometrie şi temperaturile acestora.

Tabelul 1.3. Caracteristici ale unor flăcări utilizate în spectrometria de emisie atomică

Carburant	Comburant	Temperatura ^oC
Acetilenă	aer	2400
,,	N_2O	2800
,,	oxigen	3140
Hidrogen	aer	2050
,,	N_2O	2700
,,	oxigen	2700
Propan	aer	1900

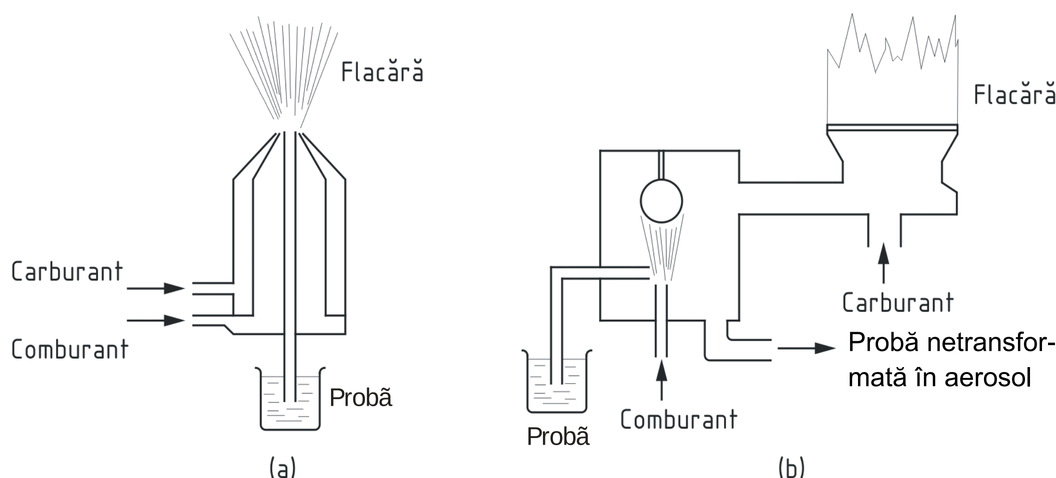
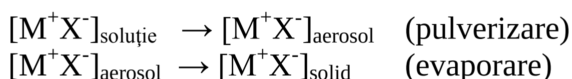


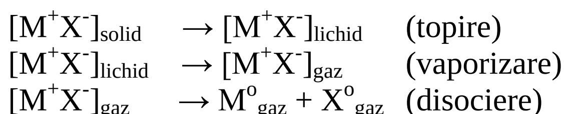
Fig. 1.28. Schemele unor arzătoare folosite în spectrometria de emisie: a) fără preamestecarea gazelor, b) cu preamestecarea gazelor.

Să considerăm o soluţie apoasă a unei săruri MX. La pulverizarea soluţiei în flacără pot să aibă loc următoarele procese:



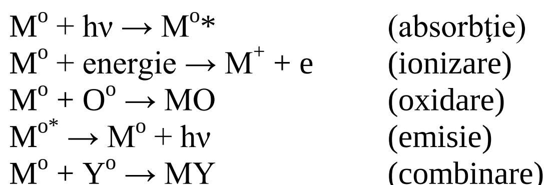
$[M^+X^-]_{soluție} \rightarrow [M^+X^-]_{aerosol}$ (pulverizare)

$[M^+X^-]_{aerosol} \rightarrow [M^+X^-]_{solid}$ (evaporare)



$[M^+X^-]_{solid} \rightarrow [M^+X^-]_{lichid}$ (topire)
$[M^+X^-]_{lichid} \rightarrow [M^+X^-]_{gaz}$ (vaporizare)
$[M^+X^-]_{gaz} \rightarrow M^o_{gaz} + X^o_{gaz}$ (disociere)

Procesele care pot avea loc pentru atomii M^o în faza gazoasă sunt:



$M^o + h\nu \rightarrow M^{o*}$ (absorbţie)
$M^o + \text{energie} \rightarrow M^+ + e$ (ionizare)
$M^o + O^o \rightarrow MO$ (oxidare)
$M^{o*} \rightarrow M^o + h\nu$ (emisie)
$M^o + Y^o \rightarrow MY$ (combinare)

unde O reprezintă oxigenul iar Y un atom străin.

Radiaţiile sunt emise de atomii excitaţi M^{o*} prin revenire la starea fundamentală. Este de dorit ca flacăra să producă o populaţie cât mai mare de atomi neutri care să poată fi apoi excitaţi.

Ionizarea, oxidarea şi combinarea sunt fenomene nedorite, deoarece acestea reduc sau chiar elimină populaţia de atomi liberi a elementului respectiv. Folosirea unei flăcări cu temperatura ridicată va determina ionizarea unui număr mare de atomi, în cazul unor elemente uşor ionizabile (ca metalele alcaline) şi din acest motiv, pentru acestea se recomandă folosirea unei flăcări cu temperatura mai coborîtă.

Oxidarea şi combinarea apar în special la utilizarea unor flăcări cu temperaturi mici şi în cazul unor elemente ce formează oxizi refractari (aluminiu, vanadiu, titan etc.). Pentru determinarea acestor elemente se utilizează flăcări cu temperatura ridicată (ca acetilenă – protoxid de azot) cu exces de combustibil (atmosferă reducătoare).

Interferenţe ce pot apărea în flăcări

În principiu, la utilizarea flăcărilor apar aceleaşi interferenţe, atât în cazul spectrometriei de absorbţie atomică, cât şi în cazul spectrometriei de emisie atomică. Astfel, apar interferenţe datorită:

1) – suprapunerii parţiale sau totale a unor linii de emisie sau absorbţie a unor elemente;

2) – absorbţiei de fond, sau emisiei de fond;

3) – efectelor de ionizare;

4) – vaporizării.

Interferenţele datorită *suprapunerii liniilor spectrale* pot fi reduse prin utilizarea unor monocromatoare cu rezoluţie mai bună. Acest tip de interferenţe este cel mai frecvent întâlnit în spectrometria de emisie atomică, deoarece numeroase specii atomice aflate într-o flacără emit radiaţii. Aceasta dă naştere unui spectru complex care trebuie rezolvat. Probabilitatea suprapunerii liniilor spectrale în emisie va fi mai mare decât în absorbţie.

Spectrele de absorbţie atomică sunt mai simple decât cele de emisie, iar aceasta face ca şi interferenţele spectrale să fie mai reduse.

Absorbţia de fond apare în spectrometria de absorbţie atomică, drept urmare a absorbţiei moleculare şi a difuziei radiaţiei de către particulele solide nevaporizate prezente în flacără, care provin din proba de analizat.

Absorbţia moleculară se datorează unor compuşi ce constituie matricea chimică a probei şi care sunt vaporizaţi împreună cu elementul de analizat. O parte din radiaţia dată de lampa cu catod cavitar va fi absorbită nespecific de aceşti compuşi.

Se poate face o corecţie a absorbţiei de fond şi datorită difuziei radiaţiei măsurând semnalul total de absorbţie şi scăzând din el valoarea care nu se datorează absorbţiei de către atomi. Aceasta este posibil deoarece atomii absorb radiaţii ce corespund unor benzi spectrale mult mai înguste decât benzile de absorbţie moleculară. De asemenea, difuzia radiaţiei este practic constantă pentru radiaţii din benzi spectrale mult mai largi decât cele pe care le absorb atomii. Rezultă deci că la lungimi de undă apropiate de cele absorbite de atomi, absorbţia radiaţiei de către aceştia va fi practic zero, în timp ce scăderea intensităţii radiaţiei datorită absorbţiei moleculare sau difuziei va fi aceeaşi cu cea de la lungimea de undă absorbită de atomi.

În spectrometria de emisie atomică poate apărea o *radiaţie de fond* ce însoţeşte radiaţia emisă de atomii de analizat. Radiaţia de fond se poate datora flăcării sau celorlalţi componenţi ai probei de analizat. Pentru a determina intensitatea radiaţiei emise numai de atomii de analizat, din intensitatea totală emisă la o lungime de undă de o specie atomică se scade valoarea fondului măsurat în apropierea liniei spectrale respective.

Efecte de ionizare. În flacără poate să aibă loc şi o ionizare a atomilor unor elemente. Metalele alcaline sunt în mod deosebit ionizate. Ionizarea reduce populaţia de atomi neutri aflaţi atât în stare fundamentală cât şi în stare excitată şi deci va reduce sensibilitatea determinărilor.

Pentru a reduce ionizarea atomilor în flacără se adaugă probelor un exces de element uşor ionizabil, ca de exemplu potasiu sau cesiu.

Interferenţe datorită vaporizării. O serie de fosfaţi, silicaţi şi aluminaţi ai unor elemente sunt termic stabili. Pentru a aduce la stare de vapori atomici elementul respectiv trebuie utilizate flăcări suficient de calde, de exemplu o flacără protoxid de azot/acetilenă. Variaţii ale temperaturii flăcării vor determina deplasări ale echilibrului de disociere. Aceasta duce la o variaţie a populaţiei de atomi şi a sensibilităţii atât în cazul spectrometriei de emisie, cât şi de absorbţie atomică. Metale ca: aluminiul, titanul şi lantanul formează oxizi refractari care sunt foarte stabili. Pentru a obţine o populaţie de atomi suficient de mare în cazul acestor elemente este necesar să lucrăm în flăcări calde în exces de carburant, cu scopul de a crea o atmosferă reducătoare. Pentru a reduce interferenţele datorită vaporizării, la probele de analizat se adaugă elemente care se pot combina uşor cu anionii ce formează compuşi puţin volatili.

Dezavantajele atomizării şi excitării în flacără

Flacăra ca sistem de atomizare şi excitare prezintă unele dezavantaje pe care le prezentăm în continuare:

La utilizarea unui arzător pentru care gazele sunt preamestecate înainte de a ajunge în flacără, numai o mică parte din proba de analizat (aproximativ 10%) ajunge în flacără sub formă de aerosol, restul de probă separându-se sub formă lichidă.

Timpul în care atomii se găsesc efectiv în drumul optic al spectrometrului este deosebit de scurt (aproximativ 10^{-3} s), depinzând de viteza gazelor în flacără.

Are loc o diluare a vaporilor atomici formaţi, de către gazele transportoare.

Instabilitatea flăcării duce la un zgomot de fond destul de mare ce limitează determinarea elementelor la concentraţii mici.

În flacără se formează radicali liberi care se pot combina cu atomii, reducând numărul acestora.

1.4.2. Principiul aparaturii

Schema unui spectrometru de emisie atomică în flacără este prezentată în fig. 1.29. Proba de analizat în stare lichidă este introdusă sub forma unui aerosol în flacără, în care are loc vaporizarea solventului, disocierea moleculelor, transformarea elementului de analizat în atomi şi excitarea acestora. Radiaţiile emise de atomi prin revenirea la stări electronice cu energie mai mică sunt trecute printr-un sistem de separare (monocromator sau filtre) care izolează radiaţia dorită. Intensitatea acesteia este apoi măsurată cu ajutorul detectorului. Semnalul furnizat de detector (amplificat sau nu) ajunge la sistemul de evaluare care constă de obicei într-un instrument de măsură sau un înregistrator.

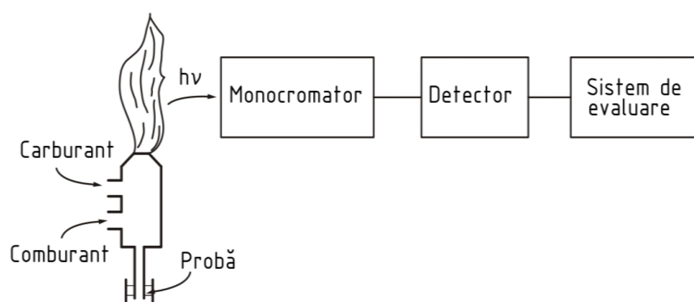


Fig. 1.29. Schema unui spectrometru de emisie atomică în flacără.

1.4.3. Analiza cantitativă

În condiţii de echilibru termic, raportul între numărul de atomi aflaţi în stare excitată, N^*, şi numărul de atomi aflaţi în stare fundamentală, N_o, este dat de relaţia:

$$\frac{N^*}{N_o} = \frac{g^*}{g_o} e^{-\frac{\Delta E}{kT}} \tag{1.33}$$

unde:

g^* şi g_o sunt ponderile statistice ale nivelurilor respective, ΔE, diferenţa de energie între cele două stări, k, constanta lui Boltzmann şi T, temperatura absolută.

În tabelul 1.4 se dau valorile unor raporturi N^*/N_o pentru liniile de rezonanţă ale unor elemente:

Tabelul 1.4. Valorile N^*/N_o pentru liniile de rezonanţă ale unor elemente

Element	Linii de rezonanţă	E (eV)	N^*/N_o	
			2000 K	3000 K
Na	589	2,10	$9,86\ 10^{-6}$	$5,88\ 10^{-4}$
Cs	852,1	1,45	$4,44\ 10^{-4}$	$7,24\ 10^{-3}$
Ca	422,7	2,93	$1,21\ 10^{-7}$	$3,69\ 10^{-5}$
Cu	324,8	3,82	$4,82\ 10^{-10}$	$6,65\ 10^{-7}$
Zn	213,9	5,80	$7,45\ 10^{-15}$	$5,50\ 10^{-10}$

Analiza cantitativă se face cu ajutorul unor curbe de calibrare obţinute cu soluţii de concentraţie cunoscută. În fig. 1.30 se prezintă aspectul unei curbe de calibrare obţinute în spectrometria de emisie atomică. Curba de calibrare este liniară numai pentru un anumit domeniu de concentraţii. La concentraţii mari, curba se aplatizează datorită fenomenului de autoabsorbţie. Autoabsorbţia se datorează faptului că atomii elementului de analizat din zona mai rece a flăcării absorb radiaţiile emise de către atomii din zona mai caldă.

La concentraţii mici se accentuează influenţa fenomenului de ionizare care duce la micşorarea intensităţii semnalului emis de atomi.

Pentru un debit constant al gazelor ce alimentează flacăra, vor fi transportate aceleaşi volume de soluţie în flacără, iar semnalul înregistrat va depinde de concentraţia elementului de analizat din probă.

Pentru a elimina erorile ce pot apărea datorită efectelor de matrice, etaloanele trebuie să aibă o compoziţie cât mai asemănătoare cu a probelor de analizat sau se poate utiliza metoda adausurilor.

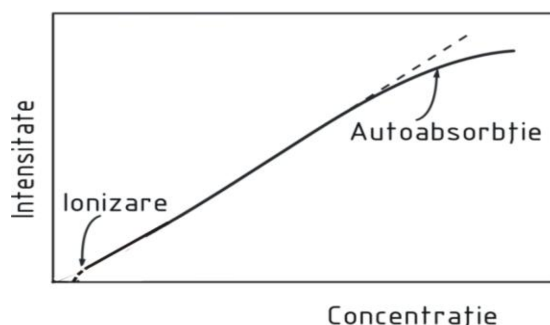


Fig. 1.30. Aspectul unei curbe de calibrare obţinute în spectrometria de emisie atomică.

Spectrometria de emisie atomică în flacără se aplică cu cele mai bune rezultate pentru determinarea elementelor alcaline, alcalino-pământoase şi a unor lantanide pentru care sensibilitatea este mai mare decât în cazul absorbţiei atomice. Pentru celelalte elemente, cu puţine excepţii, sensibilitatea determinărilor prin spectrometrie în flacără este mai mică sau cel mult egală cu a absorbţiei atomice. În ambele metode, deviaţia relativă standard este de ordinul 0,5-1%. Totuşi, spectrometria de emisie atomică în flacără prezintă avantajul, faţă de spectrometria de absorbţie atomică, prin faptul că permite determinarea simultană a unui număr mare de elemente din aceeaşi probă.

1.5. SPECTROMETRIA DE ABSORBŢIE ATOMICĂ

Fenomenul de absorbţie a radiaţiilor de către atomi a fost utilizat de către fizicieni încă din prima parte a secolului al nouăsprezecelea, când Fraunhofer a observat un număr de linii întunecate în spectrul soarelui. Prima aplicaţie analitică a absorbţiei atomice a fost la determinarea mercurului, de către Müller (în anul 1930); dar numai în 1955, când Walsh, în Australia şi independent de acesta, Alkemade şi Milatz, în Olanda, au descoperit aplicabilitatea generală a fenomenului de absorbţie atomică la determinarea unor elemente, a apărut practic noua metodă analitică, spectrometria de absorbţie atomică.

Pentru efectuarea unei determinări prin absorbţie atomică, radiaţia de la sursa de excitare, de obicei o lampă cu catod cavitar, este trecută prin vaporii atomici ai elementului de determinat, obţinuţi pe cale termică şi se măsoară atenuarea intensităţii radiaţiei transmise.

Pentru a avea loc absorbţia, energia radiaţiei trebuie să fie egală cu diferenţa de energie între starea cu energie mai mică, în care atomul se găseşte şi o stare cu energie mai mare, corespunzătoare unei stări excitate. Deoarece starea

fundamentală este aproape întotdeauna cu populaţia cea mai numeroasă, cel mai important proces este absorbţia de rezonanţă.

O parte din radiaţia absorbită va fi emisă spontan la aceeaşi lungime de undă, prin revenirea atomului la starea cu energie mai mică, dar, deoarece această radiaţie este emisă izotropic, fracţiunea ce ajunge la detectorul de radiaţii este practic nesemnificativă.

În fluorescenţa atomică, radiaţia de la o sursă de excitare este trecută prin vaporii atomici, dar detectorul nu primeşte radiaţia primară, între direcţia de observare şi a fasciculului incident fiind un unghi, de obicei de 90^o. O parte din atomii excitaţi prin absorbţie revin la starea fundamentală prin emisie spontană de fotoni. Astfel, fluorescenţa atomică diferă de emisia atomică numai prin modul de excitare.

În cazul spectrelor de emisie atomică, care sunt produse de obicei termic, utilizând flăcări, arcuri sau scântei electrice, pentru un anumit element, numai o mică parte din atomi trec în stare excitată şi pot deci emite radiaţii, iar această parte este puternic influenţată de temperatura sursei de excitare. Din acest motiv, mici fluctuaţii ale temperaturii determină variaţii apreciabile ale intensităţii radiaţiilor emise.

În cazul absorbţiei atomice, importantă este populaţia de atomi aflată în stare fundamentală, care este mai puţin influenţată de mici fluctuaţii de temperatură.

Spectrul de emisie este de obicei mai complex decât cel de absorbţie, deoarece numeroase specii atomice prezente în sursa de excitare emit radiaţii. Aceste radiaţii trebuie separate utilizând un monocromator de rezoluţie înaltă. Probabilitatea suprapunerii liniilor spectrale în emisie este mult mai mare decât în absorbţie.

Spre deosebire de spectrele de emisie, spectrele de absorbţie sunt mai simple, pentru rezolvarea lor necesitând utilizarea unui monocromator mai puţin pretenţios.

1.5.1. Absorbţia radiaţiilor de către atomi

La trecerea unui fascicul de radiaţii de diferite lungimi de undă printr-o celulă ce conţine vapori atomici ai unui element, radiaţia transmisă va arăta o distribuţie în funcţie de frecvenţă după cum se vede în fig. 1.31.

Specia atomică posedă deci o linie de absorbţie la frecvenţa ν_o, unde ν_o este frecvenţa centrului liniei.

Intensitatea radiaţiei transmise de către atomi (sub formă de vapori) la o anumită frecvenţă, ν, este dată de relaţia:

$$I_\nu = I_{o(\nu)} e^{-k_\nu l} \quad (1.34)$$

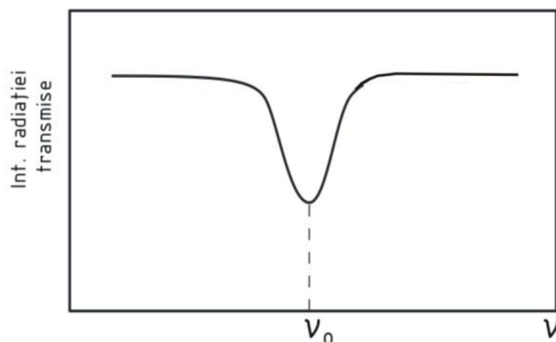


Fig. 1.31. Profilul de absorbţie al unei linii spectrale.

unde $I_{o(\nu)}$ şi I_ν reprezintă intensitatea radiaţiei incidente, respectiv transmise, de frecvenţă ν, k_ν este coeficientul de absorbţie al vaporilor atomici pentru radiaţia de frecvenţă ν, iar *l* este grosimea stratului absorbant.

Absorbţia integrală a liniei spectrale este dată de relaţia:

$$\int k_\nu d\nu = \frac{\pi e^2}{mc} N_\nu f \tag{1.35}$$

unde N_ν este numărul de atomi pe cm^3 care pot absorbi în domeniul de frecvenţă corespunzător liniei spectrale, *f* este tăria oscilatorului (numărul mediu de electroni pe atom ce pot fi excitaţi de radiaţia incidentă), *e* este sarcina unui electron, *c* este viteza luminii şi *m* masa unui electron.

Lăţimea naturală a unei linii spectrale este de ordinul 10^{-5} nm. În realitate lăţimea unei linii spectrale de absorbţie a atomilor aflaţi într-o flacără sau alt sistem de atomizare este mai mare, ajungând la 0,01-0,001 nm. Lăţirea liniei apare datorită autoabsorbţiei, efectului Doppler şi proceselor de coliziune, lăţire Lorentz (capitolul 1.1.2).

În majoritatea cazurilor, cel mai important factor ce contribuie la lăţirea liniilor spectrale se datorează ciocnirii atomilor de analizat cu atomii gazelor străine.

Spre deosebire de linia de absorbţie a atomilor într-o sursă de atomizare, care funcţionează la presiunea atmosferică, linia de emisie a unei lămpi cu catod cavitar este mult mai îngustă, presiunea în interiorul acesteia fiind de ordinul 1 torr şi deci numărul de ciocniri este mult mai redus.

În fig. 1.32 se prezintă, pentru acelaşi element, profilul unei linii de absorbţie în flacără şi respectiv al unei linii de emisie provenite de la o lampă cu catod cavitar:

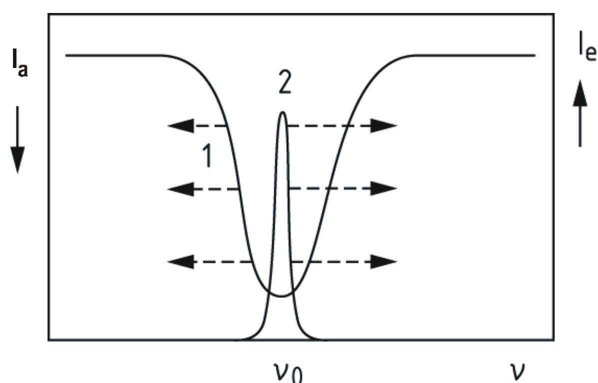


Fig. 1.32. Profilul unei linii de absorbţie (1) în flacără şi al unei linii de emisie (2) de la o lampă cu catod cavitar.

Din relaţia (1.35) rezultă că absorbţia radiaţiei este proporţională cu numărul de atomi din sursa de atomizare, deci cu concentraţia. Determinarea absorbţiei integrate este însă foarte dificilă, deoarece necesită măsurarea valorilor I_ν, pentru un mare număr de frecvenţe, corespunzând liniei spectrale de absorbţie, deci utilizarea unui spectrometru cu o rezoluţie foarte înaltă.

Se poate proceda, însă, în mod mult mai simplu, determinând absorbţia unei radiaţii cu o bandă spectrală foarte îngustă, plasată exact la maximul benzii de absorbţie de către atomi. O astfel de radiaţie este furnizată de lampa cu catod cavitar, ce are catodul din acelaşi element cu elementul de analizat. Se va măsura în acest caz coeficientul de absorbţie maximă, $k_{\nu o}$, la centrul liniei de absorbţie, care este proporţional cu numărul de atomi capabili să absoarbă radiaţia, aflaţi în sursa de atomizare.

$$k_{\nu_o} = KN_\nu \tag{1.36}$$

deci absorbanţa:

$$A = log\,\frac{I_{o(\nu_o)}}{I_{\nu_o}} = \frac{KN_\nu l}{log\,10} = K'\,c \tag{1.37}$$

unde I_o şi I reprezintă intensitatea incidentă, respectiv transmisă a radiaţiei provenite de la lampa cu catod cavitar, iar c este concentraţia elementului de analizat în vaporii atomici ai sursei de atomizare (c fiind proporţional cu N_ν).

Radiaţiile emise de lampa cu catod cavitar vor trebui să aibă o bandă spectrală mai mică de 0,001 nm, care este lăţimea unor linii înguste de absorbţie, care există în spectrele de absorbţie ale unor atomi.

1.5.2. Principiul aparaturii

În fig. 1.33 este prezentată schema bloc şi principiul de funcţionare al unui spectrometru de absorbţie atomică. *Pentru simplificarea reprezentării s-a considerat că linia de emisie a lămpii cu catod cavitar şi linia de absorbţie a radiaţiei de către atomi au aceeaşi lăţime a benzii spectrale.*

Prin măsurarea intensităţii radiaţiei transmise $I = (1 - x)I_o$, se poate determina absorbanţa ce are valoarea $A = log\ I_o/I$ şi este proporţională cu concentraţia speciei atomice în sistemul de atomizare (relaţia (1.37)).

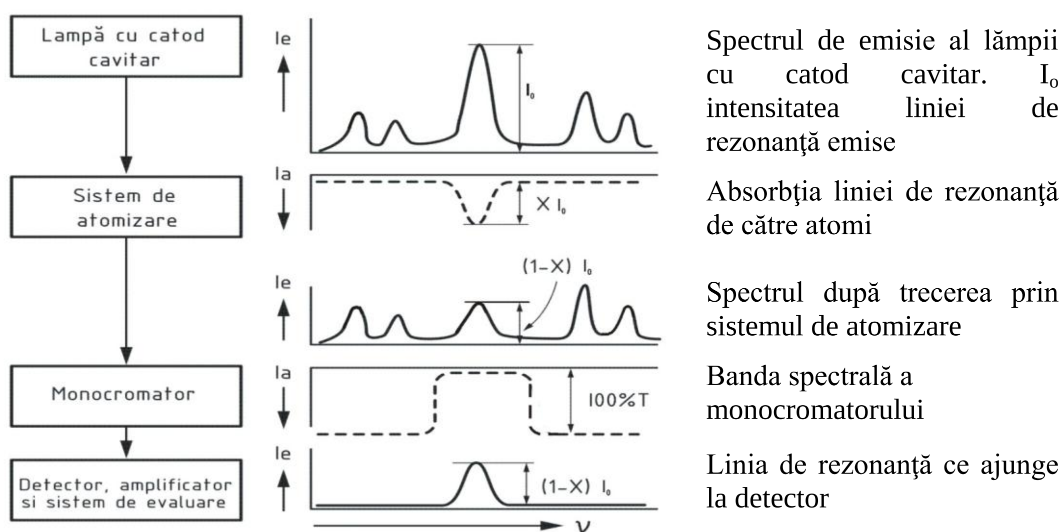


Fig. 1.33. Schema bloc şi principiul de funcţionare ale unui spectrometru de absorbţie atomică.

Cel mai utilizat sistem de atomizare este flacăra, fiind uşor de folosit. Acest sistem de atomizare precum şi interferenţele care pot apărea la utilizarea lui au fost discutate în cadrul cap. 1.4.1. Pentru evitarea unora dintre deficienţele flăcărilor ca sisteme de atomizare, s-au propus sistemele de atomizare electrotermice. Dintre acestea menţionăm cuptoarele de grafit tip Lvov şi Massmann şi filamentul de cărbune tip West.

La utilizarea unui sistem de atomizare electrotermică toţi atomii de analizat dintr-o probă sunt transformaţi în vapori atomici practic în acelaşi timp şi rămân în sistemul de atomizare putându-se măsura absorbţia de către aceştia a radiaţiei date de către lampa cu catod cavitar. Din acest motiv, sensibilitatea determinărilor este mare ($10^{-8} - 10^{-11}$ g). Pentru efectuarea unei determinări sunt necesare probe lichide cu volum foarte mic (5-10 μL) sau se pot analiza chiar probe solide.

Efectele de matrice sunt însă mai importante decât în flacără, iar eroarea relativă a determinărilor este de 5-10% (mai mare decât în flacără).

Cel mai utilizat sistem de atomizare electrotermică este cuptorul de tip Massmann, prezentat în fig. 1.34.

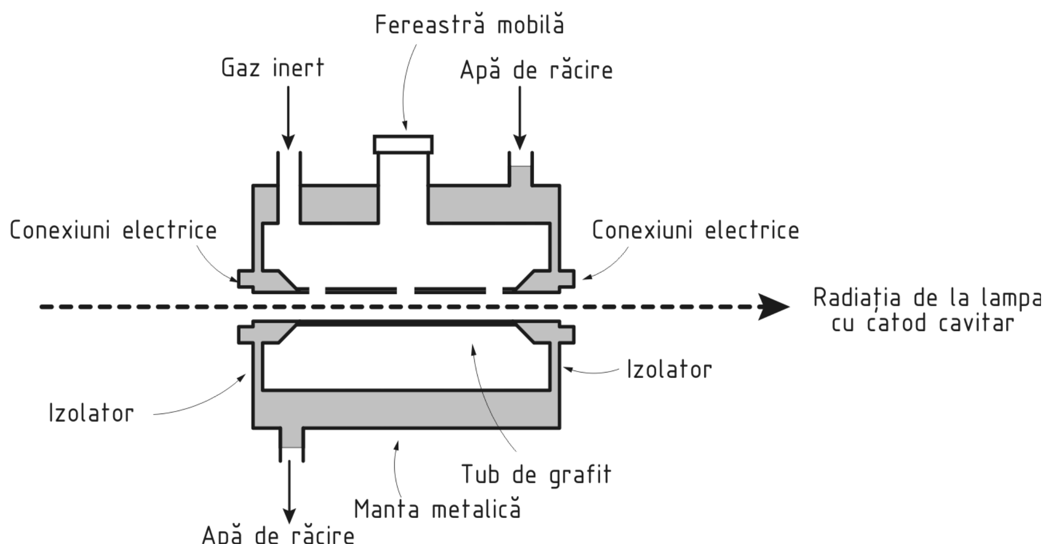


Fig. 1.34. Secţiune transversală printr-un cuptor de grafit de tip Massmann.

Cuptorul de grafit este de fapt un tub de grafit cu lungimea de aproximativ 30 mm şi diametrul de 8 mm plasat orizontal, astfel ca radiaţia de la lampa cu catod cavitar să poată trece prin el. În interior, tubul este acoperit cu grafit pirolitic, pentru ca probele lichide sau vaporii rezultaţi în urma descompunerii termice să nu pătrundă în el. Acesta este conectat la capete la o sursă electrică de tensiune mică şi intensitate mare. Probele lichide sunt introduse cu o seringă printr-un orificiu în partea centrală a tubului, prin îndepărtarea ferestrei mobile (fig. 1.34). Probele solide pot fi introduse pe la capetele acestuia în micronacele de tungsten. Un sistem de răcire cu apă, plasat în jurul tubului, permite revenirea acestuia la temperatura ambiantă în scurt timp după efectuarea unei analize. Un flux de gaz inert (argon sau azot) este introdus pe la capetele tubului, având rolul de a îndepărta din interiorul acestuia componentele matricei vaporizate din probă în etapa de calcinare şi care, în etapa de atomizare, ar putea da naştere unei absorbţii de fond pronunţate. Un al doilea flux de gaz inert circulă între tubul de grafit şi mantaua exterioară, aceasta având rolul de a evita oxidarea grafitului la temperatura de lucru cu oxigenul din aer.

Pentru efectuarea unei analize se introduce o cantitate de probă în cuptorul de grafit şi acesta este încălzit după un anumit program de temperatură. Programul de temperatură este stabilit în funcţie de natura probei şi constă din trei etape: uscare, calcinare şi atomizare.

În prima etapă, proba este încălzită la 110-125 ^{O}C, timp de 20-30 s pentru evaporarea solventului şi a componentelor mai volatile ale matricei.

În etapa a doua, temperatura este mărită, având loc volatilizarea unor compuşi şi piroliza componenţilor ce constituie matricea probei, ca de exemplu, compuşii organici.

În etapa a treia, proba este încălzită la temperaturi înalte (2000-3000 ^{O}C), când are loc transformarea în vapori atomici a elementului de analizat. În această etapă se înregistrează absorbţia radiaţiei emise de lampa cu catod cavitar de către vaporii atomici, în funcţie de timp.

Durata totală a atomizării este de ordinul 4-8 s. Semnalul înregistrat este sub forma unui maxim de absorbţie a cărui înălţime (sau suprafaţă pentru determinări mai precise) este proporţională cu cantitatea din elementul de analizat.

Limita de detecţie pentru absorbţia atomică fără flacără este cu 2-3 ordine de mărime mai coborâtă (deci concentraţiile determinate sunt mai mici) decât pentru absorbţia atomică în flacără, atomii volatilizaţi rămânând un timp mult mai lung în drumul optic al radiaţiei provenite de la lampa cu catod cavitar.

1.5.3. Analiza cantitativă

În fig. 1.35 se prezintă tipuri de grafice de calibrare pe baza cărora se pot face determinări cantitative prin absorbţie atomică. Domeniul de concentraţii pentru un element care poate fi determinat este de 4-5 ordine de mărime.

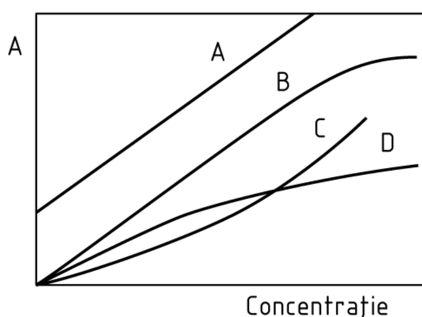


Fig. 1.35. Tipuri de grafice de calibrare în spectrometria de absorbţie atomică. Explicaţii în text.

Pentru concentraţii mari, frecvent apare o curbură a dreptei spre axa de concentraţii (curbă *B*). Mai puţin frecvent, graficul de calibrare este curb pe întregul domeniu de concentraţii (curba *D*). Curba *A* nu trece prin origine datorită absorbţiei nespecifice, adică absorbţiei radiaţiei date de lampa cu catod cavitar nu numai de către atomii probei de analizat, ci şi de alte specii prezente în flacără.

Aceasta determină existenţa unei absorbţii de fond.

Legea Lambert-Beer este respectată pentru o radiaţie cu o bandă spectrală foarte îngustă practic monocromatică, dacă însă monocromatorul nu separă o radiaţie practic monocromatică, va rezulta o curbă de calibrare nelineară (curbele *B* şi *D*). Radiaţia poate fi nemonocromatică datorită faptului că prin monocromator trec mai multe linii cu coeficienţi de absorbţie diferiţi (multipleţi nerezolvaţi sau linii care nu sunt absorbite). De asemenea, se obţine o curbă de calibrare de tip *D* atunci când lăţimea liniei de emisie este egală sau mai mare decât a liniei de absorbţie (aceasta datorită variaţiei lui *k* cu frecvenţa.

Procesele de ionizare în sursa de atomizare determină o curbare a dreptei de calibrare spre axa absorbanţelor (curba *C*). Aceasta deoarece ionizarea atomilor creşte la concentraţii mici şi descreşte la concentraţii mari.

Interferenţele care pot avea loc la atomizarea probelor în flacără au fost discutate în capitolul 1.4.1. Din cauza lăţimii reduse a liniilor atomice de absorbţie ale elementelor, numai în puţine cazuri apare o suprapunere a acestora.

Interferenţele datorită blocării atomilor de analizat în compuşi care nu sunt volatilizaţi şi descompuşi în atomi (interferenţe chimice) şi interferenţele datorită ionizării pot fi eliminate prin introducerea în proba de analizat a unui element ce se combină cu specia ce formează compusul greu disociabil şi/sau a unui element uşor ionizabil.

Prin absorbţie atomică se pot determina aproximativ 60 elemente.

Sensibilitatea şi limita de detecţie

Prin sensibilitate în cazul acestei metode de analiză se înţelege concentraţia unui element în µg/mL (sau ppm) care produce un semnal cu valoarea de 99% în transmitanţă, deci o scădere a transmitanţei cu 1% (la care corespunde o valoare a absorbanţei de 0,0044, $A = \log (1/0.99)$).

Limita de detecţie se defineşte drept concentraţia elementului care produce un semnal de două ori (sau de trei ori) mai mare decât deviaţia standard a zgomotului de fond al aparatului. Limita de detecţie este mai coborâtă decât sensibilitatea, dar la aceste concentraţii nu se pot face determinări cantitative.

În tabelul 1.5 se prezintă sensibilitatea determinării unor elemente prin absorbţie atomică în flacără şi cu atomizare electrotermică.

Valorile prezentate în tabelul 1.5 nu trebuie luate în mod absolut, ele depinzând de o serie de factori cum ar fi lăţimea benzii spectrale a monocromatorului, temperatura sursei de atomizare, sensibilitatea detectorului aparatului etc.

La utilizarea cuptorului de grafit drept sistem de atomizare, atât sensibilitatea cât şi limita de detecţie sunt în general cu aproximativ două-trei ordine de mărime mai coborâte (deci sensibilitatea determinărilor este mai mare) decât la utilizarea flăcării.

Tabelul 1.5. Sensibilitatea determinării unor elemente prin absorbţie atomică în flacără şi cu atomizare electrotermică

Element	AA în flacără (ppm)	AA cu atomizare electrotermică (ppm)
As	0,1	0,0002
Ba	0,2	0,00006
Ca	0,02	0,0004
Cd	0,01	0,000003
Co	0,07	0,00006
Cu	0,04	0,00004
Fe	0,06	0,000008
Hg	2,20	0,0005
Mg	0,003	0,000007
Pb	0,1	0,00005
Zn	0,009	0,000002

Deşi selectivitatea determinărilor prin absorbţie atomică este bună, în unele cazuri pot să apară efecte de matrice. Pentru ca efectele de matrice să nu denatureze rezultatul analizei, este necesar ca etaloanele şi probele de analizat să aibă o compoziţie cât mai asemănătoare. De asemenea, se poate aplica şi metoda adaosurilor.

1.6. SPECTROMETRIA DE RAZE X

Razele X pot fi utilizate în chimia analitică pentru analize calitative, cantitative şi de structură.

Într-o primă categorie de metode, analiza se face pe baza razelor X emise de atomii probei. Prin determinarea lungimilor de undă ale radiaţiilor emise se poate face o analiză calitativă, iar prin determinarea intensităţii acestora, o analiză cantitativă.

Într-o a doua categorie de metode, analiza se face pe baza razelor X absorbite de atomii probei de analizat. În spectrele de absorbţie a razelor X apar discontinuităţi caracteristice la anumite lungimi de undă, pentru care energia acestora este suficientă pentru a smulge un electron de pe un strat interior al

atomului (capitolul 1.1.3.2). Pe baza poziţiei acestor discontinuităţi se poate face analiza calitativă. Prin măsurarea coeficientului de absorbţie de masă se poate face analiza cantitativă.

Spectrele de emisie şi absorbţie a razelor X pentru un anumit element sunt mult mai simple decât cele de emisie şi absorbţie în domeniul vizibil şi ultraviolet. Aceasta deoarece spectrele de raze X apar în urma unor tranziţii între stări energetice ale electronilor din straturile interne ale atomului, numărul de electroni, de stări energetice şi de tranziţii permise fiind mai redus pentru aceste straturi.

Cea de a treia categorie de metode se bazează pe difracţia razelor X de către planurile de atomi ale unor cristale. Această metodă se utilizează în special pentru analize de structură şi pentru determinarea fazelor cristaline, dar poate fi utilizată şi pentru determinări cantitative. Difracţia razelor X nu aparţine metodelor spectrometrice de analiză şi va fi discutată într-un capitol separat.

1.6.1. Principiul aparaturii

Pentru efectuarea unor determinări utilizând raze X sunt necesare: o sursă de radiaţii, un sistem de separare a radiaţiilor şi un detector.

O sursă de raze X (numită şi tub de raze X) constă dintr-o incintă vidată în care se găseşte un catod încălzit (ce emite electroni) şi un anod (fig. 1.36). Electronii emişi de catod sunt acceleraţi de un câmp electric de înaltă tensiune spre anod. Între catod şi anod se aplică o diferenţă de potenţial de ordinul 10.000-100.000 V. Electronii transferă energia lor cinetică atomilor anodului. O parte din energia primită este emisă sub forma unui spectru continuu, aşa numita radiaţie de frânare (fig. 1.37). Ea se datorează interacţiunii electronilor acceleraţi cu învelişurile de electroni ale atomilor.

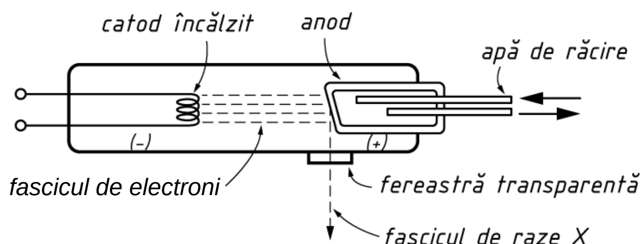


Fig. 1.36. Schema unui tub de raze X.

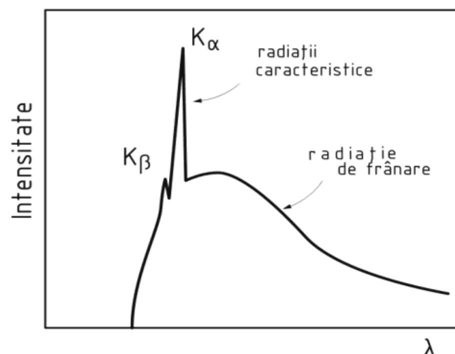


Fig. 1.37. Spectrul emis de un tub de raze X.

Dacă electronii care bombardează anodul au o energie suficientă ei pot smulge electroni de pe straturile interioare ale atomilor anodului. Locul rămas liber va fi ocupat imediat de un electron de pe un strat mai îndepărtat de nucleu, care va fi ocupat în continuare de un electron de pe un strat şi mai îndepărtat (procesul repetându-se).

Atomul ionizat revine la starea normală într-o serie de etape, în cazul fiecăreia emiţându-se radiaţii. În ultimele etape însă, fiind vorba de electroni din învelişurile exterioare, se vor emite radiaţii din domeniul vizibil şi UV. Radiaţiile emise se vor suprapune peste spectrul continuu dând naştere spectrului de raze X caracteristic atomilor anodului.

Spectrul de raze X al unui element poate fi obţinut şi prin iradierea probei cu un fascicul de raze X ce provine de la o sursă primară ce emite radiaţii cu o energie suficientă pentru a îndepărta electroni de pe învelişurile interne ale atomilor. Fenomenul se numeşte fluorescenţă de raze X.

Razele X mai pot fi produse şi prin excitarea atomilor de către radiaţii ce provin de la surse radioactive, ca de exemplu ^{55}Fe sau ^{238}Pu.

Din razele X emise de o sursă se obţine un fascicul paralel folosind colimatoare constituite din mai multe plăci metalice plasate paralel la mică distanţă, care nu vor lăsa să treacă decât radiaţiile paralele cu acestea.

Separarea razelor X în funcţie de lungimea de undă se face cu cristale analizoare. În fig. 1.39 se prezintă drumul parcurs de razele X la reflexia pe planurile unui cristal. Vor fi separate radiaţiile cu acele lungimi de undă care prezintă o interferenţă constructivă şi pentru care este respectată relaţia lui Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin\theta \tag{1.38}$$

unde:

d este distanţa dintre planurile cristalului, θ este unghiul de incidenţă iar *n* este un număr întreg reprezentând ordinul de difracţie.

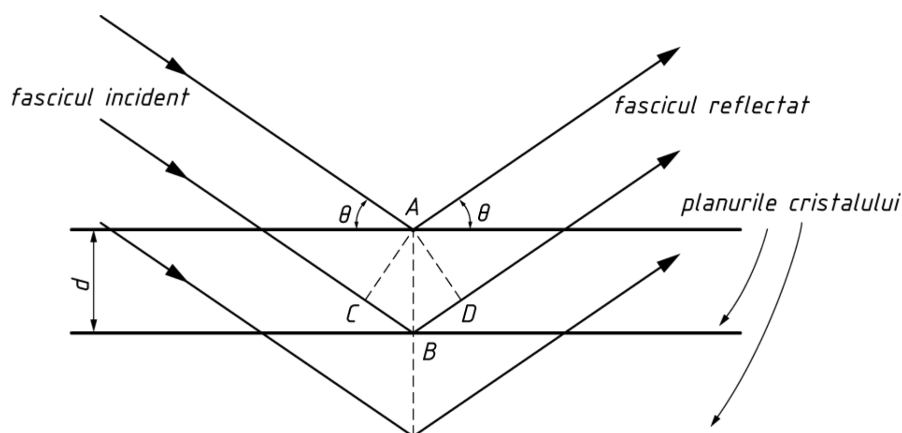


Fig. 1.38. Reflexia razelor X pe planurile unui cristal.

Din fig. 1.38 se vede că radiaţia reflectată de către al doilea plan al cristalului analizor parcurge o distanţă $\overline{CBD}$ în plus faţă de radiaţia reflectată de primul plan. Unghiurile CAB şi BAD sunt egale cu θ. Deci $\overline{CB} = \overline{BD} = \overline{AB}\sin\theta$, iar $\overline{AB}$ este distanţa interplanară *d*. $\overline{CBD} = 2d\sin\theta$ va trebui să fie un multiplu întreg al lungimii de undă a razelor X reflectate pentru ca acestea să fie în fază şi să interfere constructiv. Radiaţiile cu alte lungimi de undă vor suferi o interferenţă distructivă.

Unghiul între prelungirea direcţiei fasciculului incident şi a celui reflectat este de 2θ. Pentru a separa razele X emise de probă în funcţie de lungimea de undă, cristalul analizor este montat pe un gonimetru (instrument ce măsoară unghiuri) şi este rotit aşa cum se prezintă în fig. 1.40. În tabelul 1.6 se prezintă mai multe cristale analizoare şi caracteristicile acestora.

Tabelul 1.6. Cristale analizoare

Cristal	**Distanţa interplanară *d*, (nm)**	**Domeniul de utilizare (nm)**	
		Maximum	**Minimum**
Topaz	0,136	0,262	0,0189
Fluorură de Li	0,201	0,389	0,0281
Aluminiu	0,234	0,452	0,0326
Clorură de Na	0,282	0,545	0,0393
Cuarţ	0,334	0,646	0,0466

Grafit pirolitic	0,671	1,296	0,0936
Mică	0,996	1,925	0,139
Palmitat de plumb	4,560	7,830	0,639

Detectorii utilizaţi pentru razele X pot fi: camere de ionizare, contori Geiger-Muller, contori proporţionali, detectori cu scintilaţie, cu semiconductori şi emulsii fotografice.

1.6.2. Metode directe de analiză cu raze X

Se pot face analize calitative şi cantitative pe baza spectrului de raze X emis de o probă plasată pe anodul unui tub de raze X. Metoda are însă dezavantaje: tubul de raze X trebuie vidat la efectuarea fiecărei analize, este necesar un anod demontabil, la interacţia cu fasciculul de electroni proba se poate topi sau se poate volatiliza selectiv etc. Această metodă de analiză are o utilizare restrânsă.

Microsonda electronică. În cazul acestei metode, pe o suprafaţă foarte mică a probei de analizat, cu diametru de aproximativ 1 μm, este focalizat un fascicul de electroni. Bombardamentul cu electroni excită atomii, care emit spectrul caracteristic de raze X.

Limita de detecţie este de ordinul 10^{-14} g. Exactitatea relativă este 1-2% cu condiţia ca elementul de analizat să fie în concentraţie mai mare (de câteva procente). Prin această metodă se pot analiza straturi foarte subţiri, fasciculul de electroni pătrunzând numai la 1-2 μm în proba de analizat.

În fig. 1.39 se prezintă schema unei microsonde electronice. Fasciculul de electroni este focalizat cu ajutorul unor lentile magnetice pe suprafaţa probei. Incinta în care se găseşte proba este vidată.

Tot din cadrul metodelor directe de analiză cu raze X fac parte şi metodele bazate pe absorbţia razelor X, pe care însă nu le vom discuta, având o utilizare destul de restrânsă.

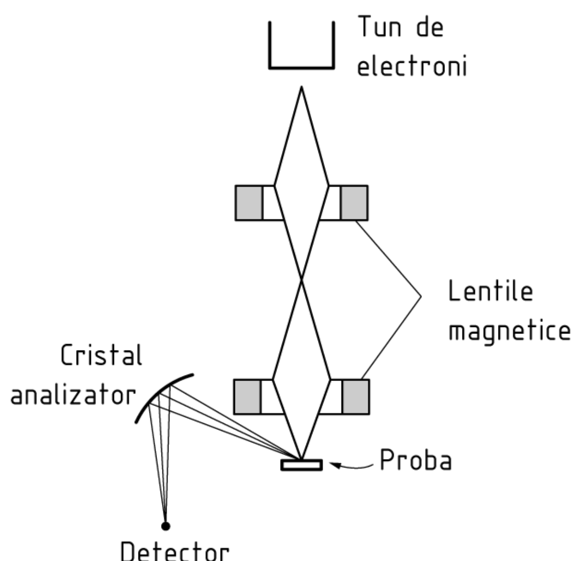


Fig. 1.39. Schema unei microsonde electronice.

1.6.3. Analiza prin fluorescenţă de raze X

Metoda constă în producerea spectrului de raze X caracteristic probei de analizat, folosind drept sursă de excitare un fascicul de raze X. Fasciculul incident trebuie să aibă o intensitate mare deoarece radiaţiile X de fluorescenţă sunt aproximativ de 1000 de ori mai puţin intense decât cele obţinute prin bombardarea directă cu electroni. De asemenea, pentru a excita fluorescenţa unui element, radiaţiile primare trebuie să aibă o lungime de undă mai mică (energie mai mare) decât cele ale discontinuităţilor ce apar în spectrul de absorbţie al elementului respectiv.

În fig. 1.40 se prezintă schema unui spectrometru de fluorescenţă de raze X. Razele X de fluorescenţă sunt colimate pe suprafaţa cristalului analizor care realizează separarea acestora în funcţie de lungimea de undă, conform relaţiei lui Bragg. Radiaţiile reflectate de planurile cristalului trec printr-un al doilea colimator şi ajung la detectorul de radiaţii. La rotirea cristalului cu unghiul θ detectorul se roteşte cu unghiul 2θ. În acest fel se obţine spectrul de raze X, în care se reprezintă intensitatea radiaţiilor X în funcţie de unghiul 2θ.

Analiza calitativă se face pe baza poziţiei picurilor de fluorescenţă în spectru. Analiza cantitativă se face determinând intensitatea radiaţiilor caracteristice emise de un element. Pentru obţinerea unor rezultate corecte, de mare importanţă este pregătirea probelor pentru analiză. La analiza unor probe solide, acestea trebuie să fie într-o stare fizică cât mai asemănătoare cu a standardelor.

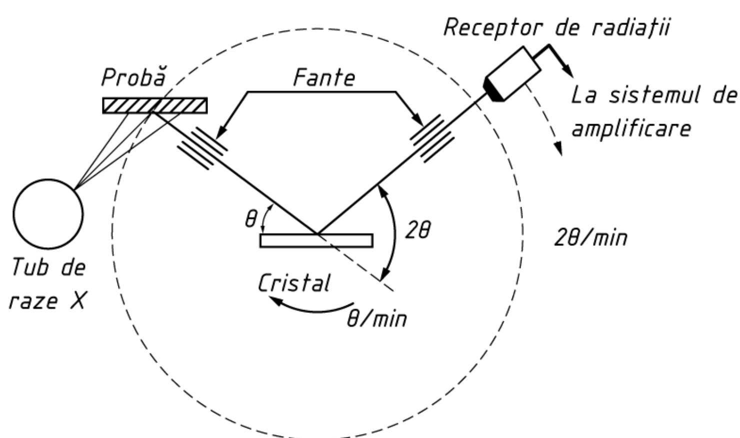


Fig. 1.40. Schema unui spectrometru de fluorescenţă de raze X.

Este importantă forma şi mărimea particulelor, deoarece acestea determină gradul în care razele X incidente sunt absorbite sau împrăştiate. Pulberile sunt presate sub forma unor pastile pentru care se face analiza. Erorile sunt mult mai reduse dacă se lucrează cu probe lichide.

Pentru a reduce efectele de matrice, proba se poate dilua cu un material ce are o absorbţie redusă, ca de exemplu: amidon, carbonat de litiu, borax etc. Efectul elementelor ce constituie matricea este micşorat apreciabil datorită diluării, având loc totodată o scădere corespunzătoare a intensităţii radiaţiilor de fluorescenţă. O altă metodă pentru a reduce efectele de matrice onstă în folosirea unui standard intern, faţă de care se măsoară intensitatea radiaţiiilor de fluorescenţă. Este însă necesar ca efectele de matrice să aibă aceeaşi influenţă asupra radiaţiilor emise de standardul intern şi de elementul de analizat.

Fluorescenţa de raze X este o metodă precisă de analiză. Pentru componenţii aflaţi în concentraţie mare, precizia este de acelaşi ordin de mărime cu a metodelor chimice de analiză. În general, pentru a putea fi determinat prin această metodă, un element trebuie să fie în concentraţie mai mare de 0,01-0,1%. Limita absolută de detecţie prin fluorescenţă cu raze X este însă 10^{-8} g.

Metoda este selectivă, apărând foarte puţine interferenţe spectrale datorită simplităţii relative a spectrului de raze X. Alt avantaj este acela că metoda este nedistructivă.

1.7. METODE SPECTROMETRICE DE ABSORBŢIE MOLECULARĂ ÎN DOMENIUL VIZIBIL ŞI ULTRAVIOLET

1.7.1. Legea fundamentală a absorbţiei radiaţiei

În studiile cantitative de absorbţie, un fascicul al radiaţiei este trecut prin proba de analizat şi se măsoară intensitatea radiaţiei transmise. Să considerăm că radiaţia folosită este monocromatică şi că scăderea intensităţii radiaţiei transmise se datorează *numai absorbţiei.* Proba de analizat se introduce într-o celulă cu feţe plan paralele. Determinările se fac de obicei faţă de o probă de referinţă, de comparaţie, conţinută într-o celulă de aceleaşi dimensiuni cu cea în care se află proba de analizat. Proba de referinţă conţine în mod obişnuit solventul şi constituenţii probei, cu excepţia speciei a cărei absorbanţă o măsurăm. Cu o asemenea soluţie de referinţă în celulă, intensitatea radiaţiei transmise reprezintă intensitatea radiaţiei incidente minus cea pierdută prin difuzie, reflecţie şi orice absorbţie datorată altor constituenţi.

Să notăm intensitatea radiaţiei incidente cu I_0 şi cea a radiaţiei transmise prin proba de analizat cu I_t.

Referindu-ne la fig. 1.41, *dI* reprezintă scăderea intensităţii radiaţiei în stratul infinit mic *dl*. *dI* este proporţional cu *I*, unde *I*, este intensitatea radiaţiei în acel punct. Scriem *-dI* deoarece este vorba de o scădere a intensităţii radiaţiei.

$$-dI = kIdl \tag{1.39}$$

unde *k* este o constantă de proporţionalitate caracteristică speciei absorbante şi energiei fotonilor. Rearanjând relaţia (1.39) obţinem:

$$-\frac{dI}{I} = kdl \tag{1.40}$$

Integrând ecuaţia (1.40) pentru întreg drumul parcurs de radiaţii, *l*:

$$-\int_{I_0}^{I_t} \frac{dI}{I} = k\int_0^1 dl \tag{1.41}$$

obţinem:

$$\ln \frac{I_0}{I_t} = kl \qquad \text{sau} \qquad I_t = I_0 e^{-kl} \tag{1.42}$$

care este legea Lambert.

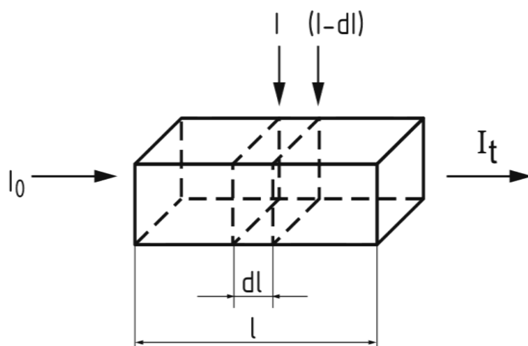


Fig. 41. Procesul de absorbţie al radiaţiei.

Trecând de la logaritmi naturali la cei în baza 10, obţinem:

$$2{,}303 \log \frac{I_0}{I_t} = kl \quad \text{sau} \quad \log \frac{I_0}{I_t} = k'l \tag{1.43}$$

unde k' = 0,4343 k. *Foarte frecvent intensitatea radiaţiei transmise se notează cu I (fără indicele t) notaţie pe care o vom folosi în continuare.*

Beer a stabilit că atunci când absorbţia radiaţiei se datorează unei specii dizolvate, constanta de proporţionalitate k' este funcţie de concentraţia acesteia:

$$k' = ac \tag{1.44}$$

cele două legi combinate devin:

$$log \frac{I_0}{I} = acl \tag{1.45}$$

care este expresia legii Lambert-Beer. Dacă grosimea probei este exprimată în cm şi concentraţia în grame de substanţă pe litru de soluţie, constanta a este numită absorbtivitate specifică şi se exprimă în L $g^{-1}cm^{-1}$. Frecvent c se exprimă în moli/L iar l în cm, în aceste condiţii constanta a se notează cu ε, care se numeşte absorbtivitate molară sau coeficient molar de absorbţie. Ecuaţia (1.45) devine:

$$log\frac{I_0}{I} = \varepsilon cl = A \qquad (1.46)$$

unde *A* se numeşte absorbanţă.

ε se exprimă în L $mol^{-1}cm^{-1}$. Valoarea ε este caracteristică unei specii absorbante, într-un mediu (solvent) anumit şi pentru o anumită lungime de undă. Valoarea ε este independentă de concentraţie.

Raportul I/I_0 se numeşte transmitanţă (notată cu *T*) care este fracţiunea din intensitatea radiaţiei incidente ce este transmisă de probă. Transmitanţa procentuală este definită ca *T x 100* şi se notează cu *T%*:

$$-\log T = log\frac{I_0}{I} = \varepsilon cl = A \qquad (1.47)$$

În deducerea legii Lambert-Beer, exprimată prin relaţia (1.46) s-a considerat că:

- radiaţia incidentă este monocromatică,
- speciile absorbante acţionează independent una de alta în procesul de absorbţie.

Ecuaţia (1.46) ne indică faptul că, măsurând absorbanţa sau transmitanţa se poate determina concentraţia dacă se cunosc ε şi *l*.

Relaţiile dintre absorbanţă, transmitanţă şi concentraţie la o anumită lungime de undă sunt ilustrate în fig. 1.42.

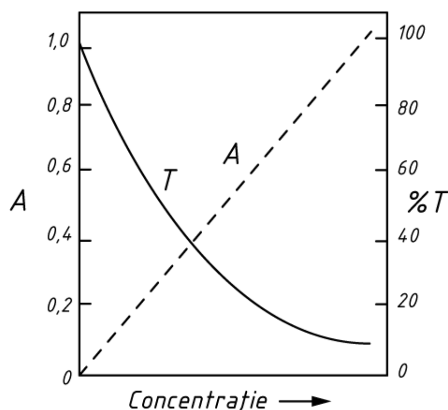


Fig. 1.42. Absorbanţa şi transmitanţa reprezentate în funcţie de concentraţie la o lungime de undă şi grosime de strat date.

În fig. 1.43 este prezentată relaţia între transmitanţa la sută şi absorbanţă.

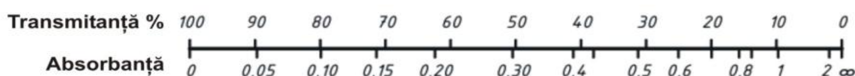


Fig. 1.43. Relaţia între T% şi A.

Sisteme multicomponente

Pentru sisteme cu mai multe componente absorbante se poate considera că, în procesul de absorbţie, acestea acţionează independent una de alta şi absorbanţele lor sunt aditive. O asemenea situaţie este prezentată în fig. 1.44:

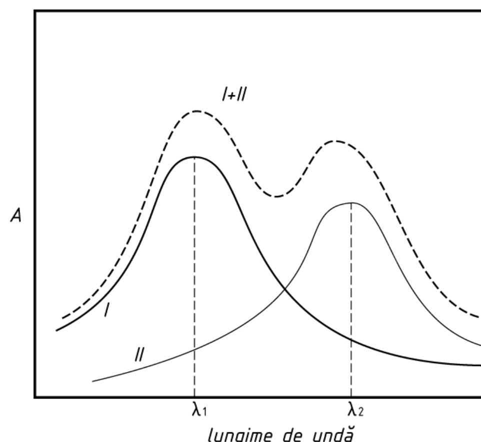


Fig. 1.44. Spectrele a două componente care se suprapun parţial şi spectrul amestecului.

În general, dacă sunt *n* componente, expresia absorbanţei amestecului la o lungime de undă λ se poate scrie astfel:

$$A^{\lambda} = \sum^{n} A_n^{\lambda} = \sum^{n} \varepsilon_n^{\lambda} c_n l \qquad (1.48)$$

În principiu, sunt necesare *n* măsurători de absorbanţă la *n* lungimi de undă pentru a determina concentraţia a *n* componente într-un amestec. Lungimile de undă trebuiesc astfel alese încât să fie diferenţe cât mai mari între absorbtivităţile molare ale diferitelor specii la λ respectiv. Se obţine un sistem de *n* ecuaţii cu *n* necunoscute (concentraţiile c_n) prin a cărui rezolvare se află concentraţiile compuşilor de analizat.

Abateri de la legea Lambert-Beer

Legea Lambert-Beer se aplică pentru orice mediu solid, lichid sau gazos cu condiţia ca radiaţia folosită să fie monocromatică şi ca scăderea intensităţii acesteia să se datorească numai absorbţiei. Abaterile de la legea Lambert-Beer sunt de trei tipuri: reale, instrumentale şi chimice.

Abateri reale apar pentru sistemele în care concentraţia speciei absorbante este prea mare şi are loc o modificare a indicelui de refracţie al soluţiei de analizat faţă de cel al probei de comparaţie (o situaţie similară apare şi la utilizarea unor amestecuri de solvenţi organici cu apă). Din acest motiv, în general, concentraţia

speciei de analizat trebuie să fie mai mică de 10^{-2}M.

Abaterile instrumentale se datorează în primul rând faptului că nu se utilizează o radiaţie strict monocromatică pentru efectuarea măsurătorilor, aşa cum s-a avut în vedere la deducerea legii Lambert-Beer. Este practic imposibil de a separa o radiaţie perfect monocromatică dintr-o sursă continuă. Se obţine o bandă a cărei lăţime depinde de elementul dispersiv şi de lăţimea fantelor.

Cu excepţia cazului când absorbtivitatea molară este aceeaşi pentru diferitele lungimi de undă din cadrul benzii spectrale utilizate, absorbanţa măsurată ar trebui să fie o medie a absorbanţelor din cadrul benzii spectrale. Datorită însă naturii logaritmice a absorbanţei, aceasta nu este o adevărată medie. Vor apărea erori atunci când absorbtivităţile molare variază semnificativ pentru radiaţiile de diferite lungimi de undă din cadrul benzii spectrale, deci atunci când determinările nu se fac la un maxim de absorbţie ci pe porţiunea înclinată a curbei de absorbţie (fig. 1.45).

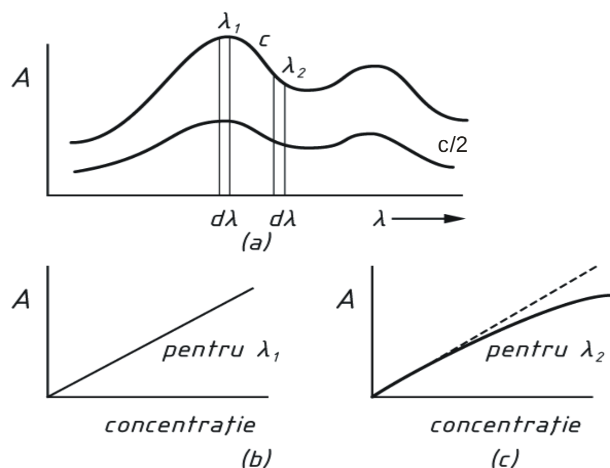


Fig. 1.45. Efectul utilizării unei benzi spectrale. (a) Un component la două concentraţii, (b) Curbă de calibrare liniară la λ_1, (c) Curbă de calibrare nelineară la λ_2

Este de dorit să lucrăm cu benzi spectrale înguste pentru exactitate mare, dar pe măsură ce banda se îngustează, la detector ajunge o energie din ce în ce mai redusă, ceea ce face mai dificile determinările. Abaterile de la legea Lambert-Beer sunt mai mari pentru benzi spectrale largi decât pentru benzi spectrale înguste.

Alte cauze de natură instrumentală ce determină abateri de la legea Lambert-Beer includ: 1) – variaţia în sensibilitatea detectorului; 2) – variaţia în timp a intensităţii radiaţiei emise de sursă; 3) – radiaţia parazită a aparatului care ajunge la detector.

Celulele în care se fac determinările de absorbanţă trebuie să fie perfect

calibrate şi foarte curate, de asemenea, soluţiile utilizate nu trebuie să conţină suspensii, care ar conduce la scăderea intensităţii fasciculului incident prin difuzia radiaţiei.

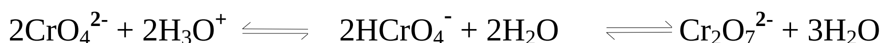
*Abateri chimice***.** Sunt determinate de deplasarea unui echilibru chimic în care sunt implicate speciile absorbante.

Să considerăm cazul unui acid slab HA care, în soluţie apoasă poate disocia. Absorbanţa soluţiei la o anumită lungime de undă va fi dată de relaţia:

$$A = \varepsilon_{HA}(1-\alpha)cl + \varepsilon_{A} \cdot \alpha cl$$

c este egal cu $[HA] + [A^-]$, $\varepsilon_{A^-} \neq \varepsilon_{HA}$, iar α este gradul de disociere. La diluarea soluţiei acidului respectiv, α va varia, fiind funcţie de concentraţie, ceea ce face să nu fie o dependenţă liniară între absorbanţă şi concentraţie, deci să nu se respecte legea Lambert-Beer.

O soluţie apoasă de bicromat ne oferă un alt exemplu de nerespectare a legii Lambert-Beer. În acest sistem sunt prezente speciile CrO_4^{2-}, $HCrO_4^-$, $Cr_2O_7^{2-}$ care, toate absorb radiaţii, având însă absorbtivităţi molare diferite la o anumită lungime de undă. Concentraţia relativă a celor trei specii depinde de concentraţia totală a Cr(VI) şi de pH. În soluţie sunt prezente echilibrele:



$$2CrO_4^{2-} + 2H_3O^+ \rightleftharpoons 2HCrO_4^- + 2H_2O \rightleftharpoons Cr_2O_7^{2-} + 3H_2O$$

La diluarea soluţiei cu apă, vor apărea abateri de la legea Lambert-Beer. În mediu puternic acid, practic tot Cr(VI) este trecut în $Cr_2O_7^{2-}$ iar în mediu puternic bazic, Cr(VI) este prezent sub forma CrO_4^{2-}. În ambele cazuri, legea Lambert-Beer se va respecta.

Temperatura influenţează valorile absorbanţei şi în general creşterea ei are un efect batocrom asupra maximelor de absorbţie. Totuşi, nu este necesar de a se lucra în regim termostatat decât pentru determinări foarte precise, fluctuaţii mici ale temperaturii probelor ($\pm$1-2 ^oC) influenţând în mică măsură valorile absorbanţelor.

1.7.2. Eroarea fotometrică. Condiţii pentru o eroare minimă la determinarea absorbanţei

Există întotdeauna o eroare în determinarea absorbanţei sau transmitanţei. Avem astfel o eroare de citire a scalei instrumentului de măsură, care depinde de un număr de factori instrumentali şi de zona scalei în care se face citirea. Aceste erori sunt mai pronunţate pentru valori mari ale absorbanţei. Erorile datorită citirii scalei instrumentului de măsură pot fi reduse mult prin extensia scalei pe cale optică, mecanică sau electronică. La valori mici ale absorbanţei, intensităţile

radiaţiilor incidente şi transmise sunt foarte apropiate, din acest motiv va fi o eroare relativ mare în determinarea absorbanţei pe care instrumentul o determină ca logaritmul raportului celor două intensităţi (relaţia 1.46)). Pe de altă parte, la valori mari ale absorbanţei, intensitatea radiaţiei ce ajunge la detector este prea mică pentru a putea fi măsurată exact.

Pentru instrumentele moderne, factorul principal care limitează precizia determinărilor cantitative este zgomotul de fond al aparatului, aceasta chiar în condiţiile unui mod de operare foarte atent. Zgomotul de fond reprezentând de fapt fluctuaţiile aleatoare ale semnalului ce ajunge la detector şi ale răspunsului detectorului.

Să discutăm influenţa zgomotului de fond al răspunsului detectorului asupra preciziei determinărilor. Zgomotul de fond al răspunsului detectorului poate fi independent de intensitatea radiaţiei ce ajunge la el, cum este cazul detectorilor termici (termocuple, bolometre, celule pneumatice Golay) sau să fie proporţional cu rădăcina pătrată a intensităţii radiaţiei ce ajunge la el, cum este în cazul detectorilor fotoemisivi (fotocelule, tuburi fotomultiplicatoare).

Să considerăm cazul în care zgomotul de fond în răspunsul detectorului este independent de intensitatea radiaţiei ce ajunge la el. Eroarea relativă în determinarea unei concentraţii *c*, este *Δc/c*, unde *Δc* reprezintă eroarea absolută şi va fi determinată de fluctuaţiile în răspunsul detectorului. Din legea Lambert-Beer obţinem:

$$c = \frac{1}{\varepsilon l} log \frac{I_o}{I} \qquad (1.49)$$

$$dc = \frac{-1}{2{,}3\varepsilon l} \frac{dI}{I} \qquad (1.50)$$

sau:

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{-\Delta I}{2{,}3 A I} \qquad (1.51)$$

Astfel, eroarea relativă în concentraţie, *Δc/c*, este invers proporţională cu produsul absorbanţei şi al intensităţii radiaţiei transmise. Să presupunem că *ΔI*, eroarea în măsurarea intensităţii radiaţiei (datorită zgomotului de fond) este constantă. Valoarea minimă a erorii relative se determină punând condiţia ca derivata să fie egală cu 0.

$$\frac{d}{dI}\left(\frac{\Delta c}{c}\right) = \frac{-\Delta I}{2{,}3}\frac{d}{dI}\left(I\, log \frac{I_0}{I}\right)^{-1} = \frac{-\Delta I}{2{,}3}\left(I\, log \frac{I_0}{I}\right)^{-2}\left(log \frac{I_0}{I} - 0{,}4343\right) = 0 \qquad (1.52)$$

Această condiţie va fi satisfăcută dacă:

$$A = lg\frac{I_o}{I} = 0,4343$$

respectiv: $$T = \frac{I}{I_o} = \frac{1}{e} = 0,3679 = 36,8\%$$

Din fig. 1.46 rezultă că eroarea relativă în determinarea concentraţiei este minimă şi practic constantă în domeniul de absorbanţă 0,3-0,7, domeniu în care este indicat să facem măsurătorile.

În al doilea caz, zgomotul de fond în răspunsul detectorului este proporţional cu radicalul intensităţii radiaţiei ce ajunge la el, $\Delta I = kI^{1/2}$, unde k este o constantă de proporţionalitate.

Înlocuind în relaţia (1.51) ΔI cu $kI^{1/2}$ obţinem expresia erorii relative în concentraţie:

$$\frac{\Delta c}{c} = \frac{-k}{2,3}\left(I^{\frac{1}{2}} \log \frac{I_0}{I}\right)^{-1} \quad (1.53)$$

Diferenţiind:

$$\frac{d}{dI}\left(\frac{\Delta c}{c}\right) = \frac{-k}{2,3}\frac{d}{dI}\left(I^{\frac{1}{2}} \log \frac{I_0}{I}\right)^{-2}\left(\frac{1}{2}I^{\frac{1}{2}} \log \frac{I_0}{I} - I^{\frac{1}{2}}\left(0,4343I^{-1}\right)\right) = 0 \quad (1.54)$$

Eroarea relativă minimă va fi la acea concentraţie căreia îi corespunde o intensitate a radiaţiei transmise pentru care avem:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = 2 \times 0,4343 = 0,8686$$

$$T = \frac{I}{I_0} = 0,135 = 13,5\%$$

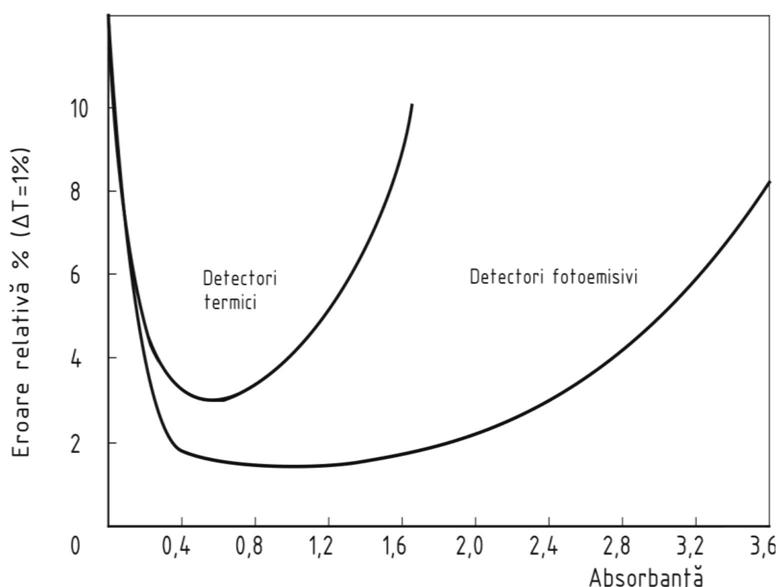


Fig. 1.46. Eroarea relativă, Δc/c, în procente, în funcţie de absorbanţă, pentru care eroarea în evaluarea transmitanţei este constantă, de 1% ([21] p. 74.

Din fig. 1.46 se poate vedea că domeniul de absorbanţe pentru care eroarea relativă în determinarea concentraţiei este mică este mult mai larg în cazul detectorilor fotoemisivi faţă de cei termici.

1.7.3. Corelarea spectrelor electronice de absorbţie cu structura moleculară

Spectrele de absorbţie moleculară în domeniul vizibil şi UV se datoresc tranziţiei unor electroni din orbitali moleculari de legătură sau nelegătură aflaţi în stare fundamentală, în orbitali moleculari de antilegătură care corespund unor stări excitate. Energiile electronilor din stările moleculare fundamentale şi stările excitate sunt determinate de structura moleculei. Peste tranziţiile electronice se suprapun tranziţii între stări energetice de vibraţie şi rotaţie. Din acest motiv, spectrele obţinute au maxime de absorbţie late.

Poziţia benzilor de absorbţie electronică este caracteristică unei anumite dispoziţii a electronilor în moleculă. Spectrul va fi determinat însă în primul rând de întreaga structură a moleculei şi mai puţin de prezenţa unor anumite legături. Informaţiile calitative şi structurale date de un spectru molecular în domeniul vizibil şi ultraviolet sunt mult mai reduse decât cele oferite de un spectru în domeniul IR.

În domeniul spectral cuprins între 200 şi 800 nm, cele mai obişnuite tranziţii sunt cele de la un orbital π sau *n* la orbitali de antilegătură π*, notate cu $\pi \rightarrow \pi^*$ şi

$n \rightarrow \pi^*$.

Termenii uzuali folosiţi la discutarea spectrelor electronice sunt: cromofor, auxocrom; efecte: batocromic, hipsocromic, hipercromic şi hipocromic.

Cromoforii sunt grupări de atomi care absorb radiaţii din ultravioletul apropiat, $\lambda > 200$ nm sau din domeniul vizibil, atunci când ei sunt legaţi de un schelet neabsorbant saturat care nu posedă electroni neparticipanţi (de exemplu un lanţ de hidrocarbură). Cei mai mulţi cromofori au legături duble sau triple.

Auxocromii sunt grupări de atomi, ca de exemplu -OH, $-NH_2$, -Cl etc., care au electroni de valenţă de nelegătură (neparticipanţi) şi care nu absorb radiaţii la $\lambda > 200$ nm (prezintă însă absorbanţă intensă în UV îndepărtat, prin tranziţii $n \rightarrow \sigma^*$).

Atunci când un auxocrom este ataşat la un cromofor, banda de absorbţie a cromoforului se deplasează de obicei la lungimi de undă mai mari (efect batocromic) şi are loc o intensificare a absorbţiei, efect hipercromic (creşte valoarea absorbtivităţii molare ε, la λ_{max}).

Efectul auxocromic este determinat aparent de interacţia electronilor de nelegătură, electroni liberi de valenţă, cu norul de electroni π delocalizaţi, ca urmare stabilizându-se starea excitată π^*.

Efectul hipsocromic constă în deplasarea benzilor de absorbţie la lungimi de undă mai mici, iar efectul hipocromic în micşorarea absorbţiei radiaţiei (micşorarea lui ε, la o anumită lungime de undă).

În tabelul 1.7 se prezintă maximele de absorbţie pentru unii cromofori. Benzile de absorbţie mai intense corespund unor tranziţii cu probabilitate mai mare, $\pi - \pi^*$, iar benzile de intensitate mai mică sunt datorare unor tranziţii cu probabilitate mai redusă.

Moleculele cu doi sau mai mulţi cromofori izolaţi, de acelaşi tip, separaţi prin mai multe legături simple, vor absorbi radiaţia practic la aceeaşi lungime de undă ca şi moleculele cu un singur cromofor. Intensitatea absorbţiei va fi însă proporţională cu numărul cromoforilor.

Când doi cromofori sunt separaţi printr-o legătură simplă, apare conjugarea electronilor, ceea ce duce la o schimbare importantă a spectrului de absorbţie.

Tabelul 1.7. Benzi caracteristice pentru unii cromofori comuni

Cromofor	Tipul de compus	Exemplu	Solvent	Benzi de absorbţie λ_{max} (nm)	ε_{max} (L $mol^{-1}cm^{-1}$)
0	1	2	3	4	5
Carbonil	$R_2C=O$	Acetonă	Hexan	189	900
Carbonil (aldehidă)	$R-CHO$	Acetaldehidă	Hexan	180 290	10000 17
Carboxil	$R-COOH$	Acid acetic	Etanol 95%	208	32
Amido	$R-CONH_2$	Acetamidă	Apă	220	63
Nitro	$R-NO_2$	Nitrometan	Metanol	201	5000
Nitrozo	R – N = O	Nitrozobutan	Eter etilic	300 665	100 20
Azo	R – N = N – R'	Azometan	Etanol 95%	338	4

În sistemele conjugate, distribuţia electronilor π este delocalizată pe cel puţin patru atomi ceea ce determină o descreştere în energia tranziţiilor $\pi \rightarrow \pi^*$. Absorbţia radiaţiei va creşte datorită unei probabilităţi mai mari a tranziţiei. Pe măsură ce lungimea sistemelor conjugate creşte, benzile de absorbţie se deplasează la lungimi de undă mai mari.

Compuşii carotenoizi prezenţi în plante conţin un mare număr de duble legături alchenice conjugate. β-carotenul (cu o structură asemănătoare cu a două molecule de vitamina A_1 cuplate cap la cap) este un carotenoid cu 11 duble legături conjugate. Maximul său de absorbţie, foarte intens, datorat unei tranziţii $\pi \rightarrow \pi^*$, este complet deplasat în domeniul vizibil, λ_{max} = 451 nm, ε_{max} = 13800 L $mol^{-1}cm^{-1}$ (tranziţia $\pi \rightarrow \pi^*$ apare pentru etilenă la 165 nm). Structura şi

spectrul de absorbţie al trans-β-carotenului sunt prezentate în fig. 1.47.

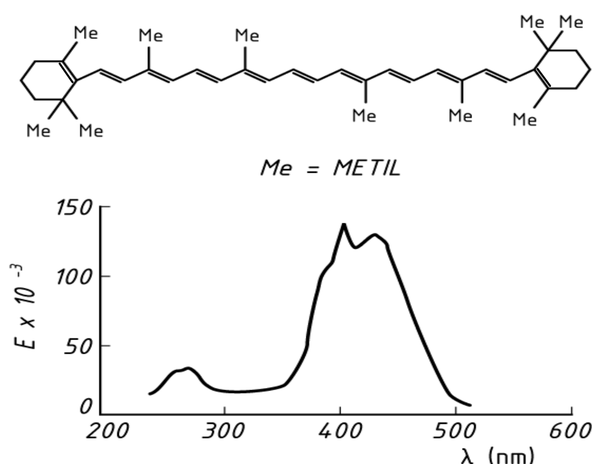


Fig. 1.47. Structura şi spectrul de absorbţie al trans-β-carotenului

Spectrometria în UV permite diferenţierea izomerilor geometrici ai unor acizi graşi nesaturaţi în lipide (fig. 1.48) [1]:

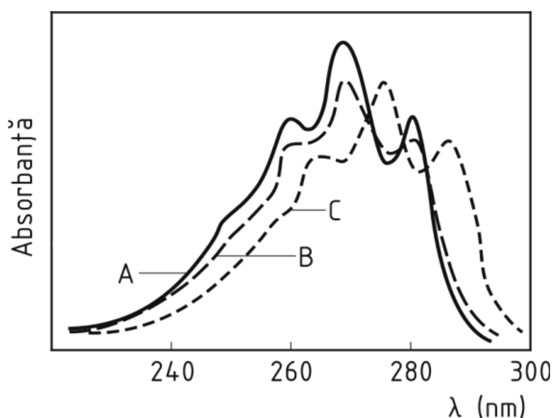


Fig.1.48. Spectrele izomerilor geometrici ai acidului octadeca-9, 11, 13-trienoic în ciclohexan. A) acid β-elaeostearic (trans-trans-trans); B) acid α-elaeostearic (cis-trans-trans); C) acid punicic (cis-cis-trans)

Prin spectrometria în UV poate fi studiată conformaţia unei proteine. Poziţia, intensitatea şi structura fină de absorbţie a grupării amidă depind de forma în care este aranjat lanţul polipeptidic (fig. 1.49)[2]. Apare un pronunţat efect hipocromic, un efect hipsocromic de intensitate redusă şi se formează un umăr la aproximativ 205 nm. La formarea structurii β, apar efecte hipercromice şi batocromice de

intensitate redusă.

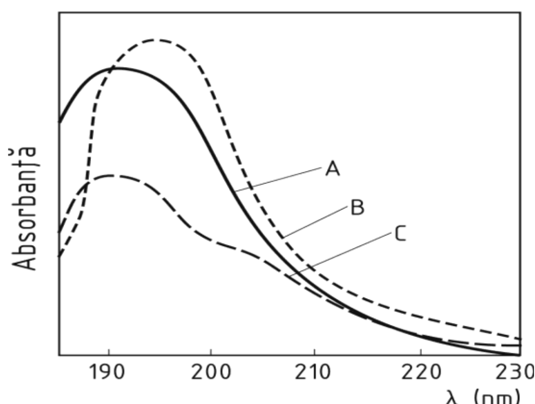


Fig. 1.49. Spectrele de absorbţie ale legăturii peptidice în poli L-lizină pentru diferite conformaţii: A) lanţul peptidic distribuit întâmplător, B) structură β, C) α-elice.

Spectrometria în UV şi vizibil este utilizată şi pentru a studia legarea grupelor proteice şi a substratului la enzime. De obicei, aceasta determină deplasări în spectrele proteinei sau a moleculei care interacţionează.

Atunci când o coenzimă flavinică se leagă la o proteină, maximul de absorbţie se deplasează de obicei la lungimi de undă mai mari decât al moleculei libere [3] (fig. 1.50):

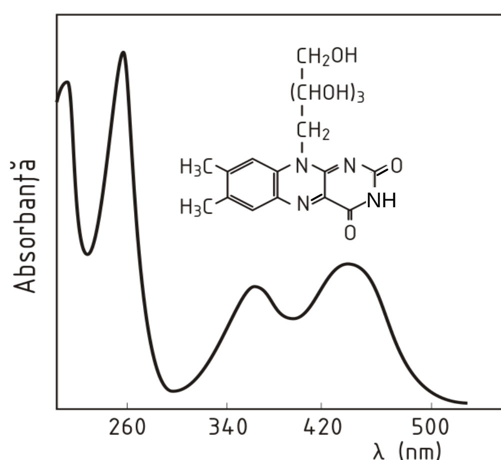


Fig. 1.50. Structura moleculară şi spectrul de absorbţie al riboflavinei.

Uneori poate apărea o nouă bandă de absorbţie, de exemplu la interacţia gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazei cu nicotinamidadenin dinucleotidul.

Spectrometria de absorbţie în UV şi vizibil îşi găseşte numeroase aplicaţii în

biochimie.

1.7.4. Analiza cantitativă

Se poate face o determinare cantitativă a proteinelor pe baza absorbţiei de la 190-220 nm datorată legăturii peptidice, dar foarte multe alte substanţe pot interfera, absorbind radiaţii la această lungime de undă.

Dintre aminoacizi, cei aromatici absorb la lungimi de undă mai mari de 230 nm, iar spectrele lor sunt suficient de diferite între ele pentru a se putea determina spectrometric cantitatea prezentă din fiecare într-o proteină. Se poate face şi o caracterizare a moleculei de proteină pe baza structurii fine a benzilor de absorbţie datorate ciclurilor aromatice, deoarece aceasta diferă de la o proteină la alta, în special în cazul fenilalaninei.

În fig. 1.51 se prezintă spectrele de absorbţie ale tirozinei, fenilalaninei şi a unei proteine ce conţine tirozină. Se constată că maximul de absorbţie datorită aminoacidului este deplasat în proteină dar aceasta nu împiedică efectuarea unei determinări cantitative.

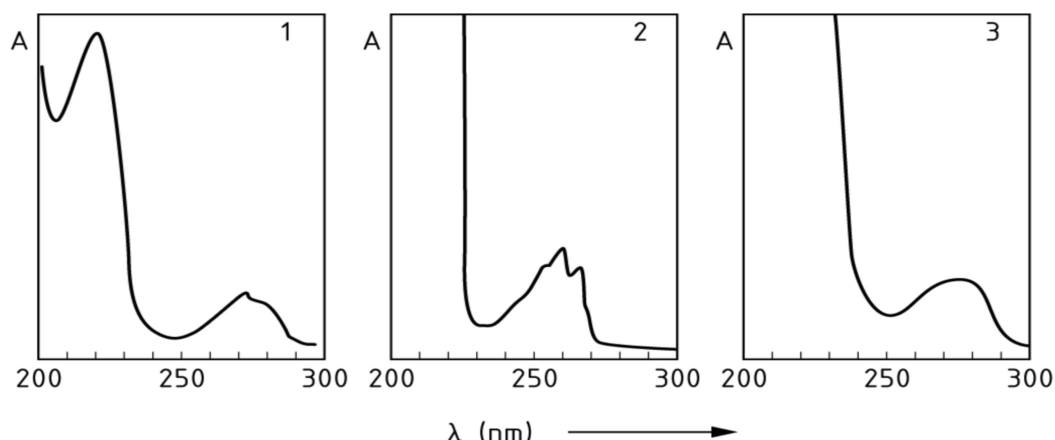


Fig. 1.51. Spectrele de absorbţie ale: 1) tirozinei, 2) fenilalaninei şi 3) unei proteine ce conţine tirozină.

Proteinele pot fi determinate cantitativ pe baza complexului pe care îl formează cu ionul de cupru(II) prin grupările -NH- din legătura peptidică (reacţia biuretului). Complexul prezintă maxime de absorbţie la 330 nm şi 540 nm (fig. 1.52):

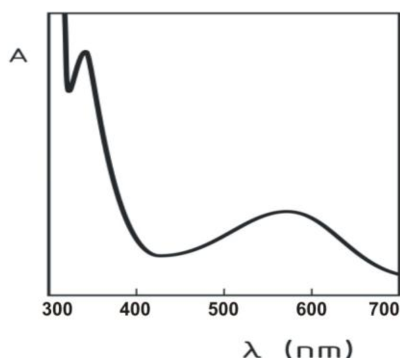


Fig. 1.52. Spectrul de absorbţie al complexului format de cupru cu proteine (reacţia biuretului).

Metoda este simplă şi destul de sensibilă. Toate proteinele reacţionează într-un mod asemănător, fiind foarte mici diferenţe de la o proteină la alta.

Prin spectrometrie în vizibil proteinele mai pot fi determinate cantitativ, pe baza proprietăţii pe care o au de a lega anumiţi coloranţi, cum ar fi verde de bromcrezol şi purpura de bromcrezol. Pentru efectuarea determinărilor este necesar un foarte strict control al pH-ului. În fig. 1.53 se prezintă spectrele de absorbţie ale verdelui de bromcrezol şi al compusului format cu albumina.

Când compusul de analizat nu absoarbe radiaţii din domeniul în care se lucrează, se obţine mai întâi un derivat colorat al acestuia. De exemplu, creatinina din sânge reacţionează cu ionul picrat, în mediu alcalin, pentru a forma un produs colorat ce absoarbe la 490 nm, acidul uric este oxidat cu fosfotungstat în mediu alcalin şi absorbanţa produsului de reacţie a fosfotungstatului de culoare albastră este măsurată la 680 nm.

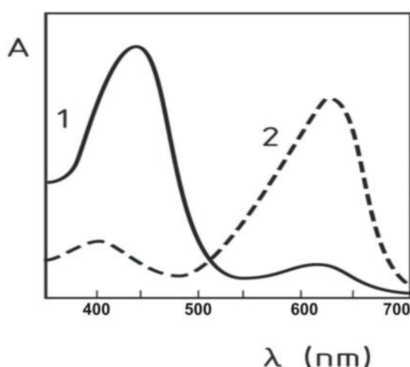


Fig. 1.53. Spectrele de absorbţie ale: 1) verde de bromcrezol; 2) compusul său cu albumina.

Un mare număr de ioni metalici formează cu o serie de reactivi organici complecşi coloraţi pe baza cărora pot fi determinaţi (astfel de reactivi sunt: ditizona, oxina, dietilditiocarbamatul de sodiu etc.).

Multe reacţii enzimatice pot fi urmărite pe baza unor determinări de absorbanţă, acestea vor fi însă discutate la capitolul de metode enzimatice de analiză.

Metodele spectrometrice în vizibil şi UV îşi găsesc largi aplicaţii şi la studiul unor echilibre de extracţie sau de complexare ale unor ioni metalici cu o multitudine de reactivi.

1.7.5. Titrări spectrometrice

Toate titrările implică transformarea unor specii chimice în altele, de aceea gradul de avansare al unei titrări poate fi urmărit şi prin măsurarea absorbanţei soluţiei în cursul procesului de titrare. Deoarece ceea ce se urmăreşte este de fapt variaţia absorbanţei şi nu valoarea absolută a acesteia, erorile care pot apărea datorită reflecţiei, refracţiei sau difuziei radiaţiei de către pereţii celulei sau de către probă sunt diminuate.

Prin folosirea unei reacţii chimice de dozare creşte mult specificitatea determinării, aceasta deoarece vor interfera, în general, numai acele substanţe (mai reduse la număr) care intervin în reacţia de dozare şi mai puţin cele care pot absorbi radiaţia.

Se poate efectua o titrare spectrometrică cu condiţia ca substanţa care se titrează, substanţa formată în timpul titrării, sau titrantul să prezinte proprietăţi absorbante caracteristice. În aceste cazuri, curba de titrare spectrometrică (care se obţine prin reprezentarea absorbanţei în funcţie de volumul de titrant) constă din două segmente de dreaptă, punctul lor de intersecţie corespunzând volumului de echivalenţă.

Să considerăm o reacţie generală de titrare:



$$A + T \rightarrow C$$

unde A este specia titrată, T titrantul şi C compusul format în reacţia de titrare. În fig. 1.54 se prezintă aspectele curbelor de titrare spectrometrică ce se pot obţine în funcţie de proprietăţile absorbante ale lui A, T şi C.

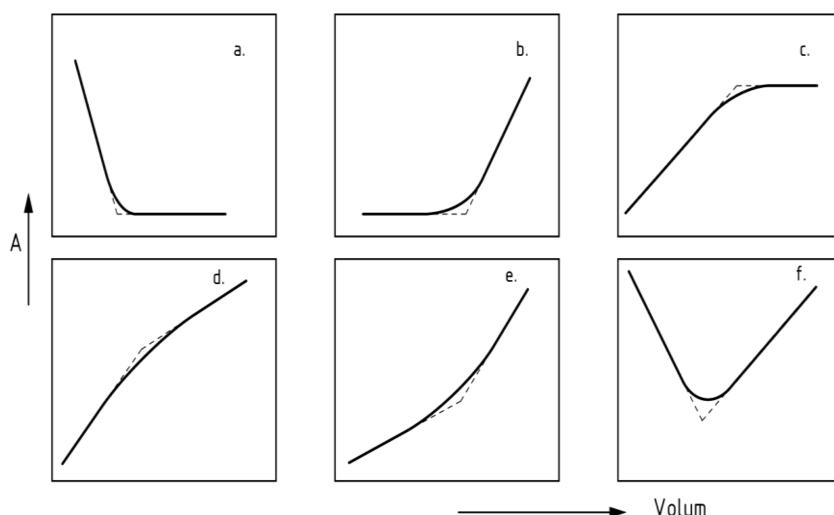


Fig. 1.54. Curbe de titrare spectrometrică pentru reacţia A + T → C. (a) absoarbe numai A; (b) absoarbe numai T; (c) absoarbe numai C; (d) A nu absoarbe dar absorbtivitatea molară a lui C este mai mare decât a lui T; (e) A nu absoarbe dar absorbtivitatea molară a lui T este mai mare decât cea a lui C; (f) C nu absoarbe dar absorbtivitatea molară a lui T este aproximativ aceeaşi cu cea a lui A.

Pentru a obţine corect cele două segmente de dreaptă dintr-o curbă de titrare, este necesar ca legea Lambert-Beer să se respecte. Pentru exactitatea mai mare a determinărilor se poate face o corecţie a absorbanţei măsurate, ţinând seama de diluarea probei în cursul procesului de titrare.

1.8. SPECTROMETRIA DE FLUORESCENŢĂ ŞI FOSFORESCENŢĂ MOLECULARĂ

Fluorescenţa şi fosforescenţa constau în reemisia de energie radiantă ce are loc după un proces de absorbţie. Determinările fluorimetrice se fac de obicei la temperatura obişnuită pentru probe dizolvate. Fosforescenţa este studiată în cele mai multe cazuri la temperaturi foarte scăzute în medii rigide (îngheţate). Intensitatea radiaţiilor emise prin fluorescenţă şi fosforescenţă (dar nu şi poziţia spectrului emis) depinde de lungimea de undă a radiaţiei excitatoare. Emisia de fosforescenţă are loc de obicei la lungimi de undă mai mari decât emisia de fluorescenţă. Spectrele de fluorescenţă şi fosforescenţă, pentru o anumită substanţă, sunt frecvent imaginea în oglindă a spectrului de absorbţie. Prezentarea principiilor fenomenelor de fluorescenţă şi fosforescenţă s-a făcut la capitolul 1.1.4.2.

Metodele fluorimetrice de analiză sunt utilizate mai mult în practică decât cele fosforimetrice, necesitând o aparatură mai simplă.

1.8.1. Relaţia între intensitatea radiaţiei de fluorescenţă (sau fosforescenţă) şi concentraţie

Între intensitatea radiaţiei emise prin fluorescenţă (sau fosforescenţă) I_e şi intensitatea radiaţiei absorbite, I_a, este o proporţionalitate:

$$I_e = Ø\, I_a \tag{1.55}$$

unde Ø este randamentul cuantic de fluorescenţă (sau fosforescenţă) o constantă de proporţionalitate care ne indică fracţiunea din radiaţia absorbită care este convertită în radiaţie emisă.

Dar $I_a = I_o - I$, unde I_o este intensitatea radiaţiei incidente iar I intensitatea radiaţiei transmise.

Înlocuind I, dat de legea Lambert-Beer (relaţia (1.46)), obţinem:

$$I_a = I_0\left(1 - 10^{-\varepsilon cl}\right) \tag{1.56}$$

Trecând la baza e şi dezvoltând în serie exponenţială, vom avea:

$$I_a = I_o\left(2{,}303\varepsilon cl - \frac{(2{,}303\varepsilon cl)^2}{2!} + \frac{(2{,}303\varepsilon cl)^3}{3!} + \ldots + \frac{(2{,}303\varepsilon cl)^n}{n!}\right) \tag{1.57}$$

Pentru soluţii foarte diluate şi pentru care termenul εcl este mai mic de 0,05 (în cazul fluorescenţei) sau 0,01 (în cazul fosforescenţei) putem scrie:

$$I_a = 2{,}303\, I_o \varepsilon cl \tag{1.58}$$

Deoarece termenii superiori pot fi neglijaţi, având valori foarte mici, valoarea lui I_e va fi dată de relaţia:

$$I_e = 2{,}303\, Ø\, I_o \varepsilon cl \tag{1.59}$$

Obţinând ecuaţia de mai sus, s-a presupus că radiaţia de fluorescenţă s-a măsurat în aceeaşi direcţie cu radiaţia excitatoare. Totuşi, din motive practice, radiaţia de fluorescenţă se măsoară la un unghi de 90^o faţă de cea excitatoare

(pentru a nu ajunge la detector şi radiaţia excitatoare mult mai intensă decât cea de fluorescenţă).

Valabilitatea relaţiei (1.59) se păstrează, dar *l* trebuie înlocuit cu *l'* ce reprezintă grosimea stratului de soluţie în direcţia detectorului de radiaţii.

Relaţia (1.59) ne indică faptul că pentru concentraţii mici, intensitatea radiaţiei de fluorescenţă este direct proporţională cu concentraţia substanţei de analizat. Deoarece valoarea intensităţii radiaţiei provenite de la sursă, I_o, se poate modifica în timp, intensitatea radiaţiei de fluorescenţă nu este măsurată în mod absolut, ci relativ. Determinările se fac faţă de un standard de fluorescenţă de concentraţie cunoscută. Curba de calibrare se construieşte reprezentând fluorescenţa relativă funcţie de concentraţie.

Relaţia (1.59) este valabilă pentru concentraţii mici, până la câteva părţi per milion, depinzând de substanţa analizată. La concentraţii mai mari, intensitatea radiaţiei de fluorescenţă descreşte cu creşterea concentraţiei.

1.8.2. Principiul aparaturii

Schema unui fluorimetru fotoelectric monofascicul cu filtre este prezentată în fig. 1.55. Această schemă este asemănătoare cu a unui aparat utilizat pentru măsurarea absorbţiei în domeniul vizibil şi UV al spectrului, cu două excepţii: 1) detectorul este rotit cu 90^o faţă de direcţia radiaţiei incidente; 2) un al doilea sistem de separare a radiaţiilor este plasat înaintea detectorului.

Sursa de radiaţii (1) constă de obicei dintr-o lampă cu vapori de mercur sau o lampă cu xenon. Ambele surse emit intens în domeniul UV al spectrului. Filtrul (2) permite trecerea unor radiaţii excitatoare de anumite lungimi de undă, iar filtrul (4) a radiaţiei de fluorescenţă.

Semnalul produs de detector, care este un curent proporţional cu intensitatea radiaţiei de fluorescenţă, este amplificat sau acţionează direct sistemul de evaluare, care este un instrument de măsură, un înregistrator etc.

Aparatele în care separarea radiaţiilor excitatoare şi de fluorescenţă se face cu ajutorul unor monocromatoare se numesc spectrofluorimetre.

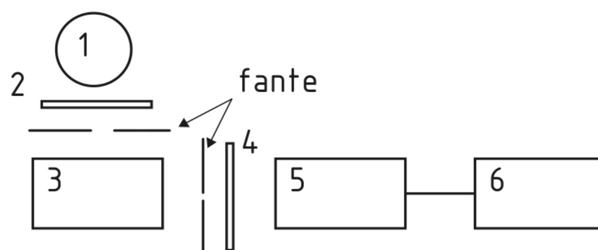


Fig. 1.55. Schema unui fluorimetru fotoelectric monofascicul cu filtre. 1) lampă cu vapori de mercur, 2) şi 4) filtre, 3) celulă ce conţine proba de analizat, 5) fotocelulă, 6) instrument de măsură

Pentru majoritatea aparatelor măsurarea radiaţiei de fluorescenţă se face la un unghi de 90^o faţă de direcţia radiaţiei excitatoare, în aceste condiţii obţinându-se cel mai redus fond dat de radiaţia excitatoare.

Un fosforimetru este asemănător cu un fluorimetru însă are în plus un dispozitiv optic care permite alternativ excitarea probei la anumite intervale de timp, excitări urmate de măsurarea radiaţiei de fosforescenţă. Pentru efectuarea determinărilor, proba de analizat este răcită frecvent la temperatura azotului lichid.

1.8.3. Factorii structurali care determină fluorescenţa

Fluorescenţa apare în general pentru molecule aromatice şi heterociclice sau care conţin mai multe duble legături conjugate. Ambele clase de substanţe au electroni delocalizaţi care pot fi trecuţi în stări excitate de singlet cu energie mică (tranziţii $\pi \rightarrow \pi^*$).

Substituenţii influenţează accentuat fluorescenţa. Un substituent care delocalizează electronii π, ca de exemplu grupările $-NH_2$, -OH, -F, $-OCH_3$, deseori măreşte fluorescenţa, deoarece măreşte probabilitatea tranziţiei între starea de singlet cu energia cea mai mică şi starea fundamentală. Grupările atrăgătoare de electroni (-Cl, -Br, -I, $-NO_2$ sau -COOH) descresc sau sting fluorescenţa.

Rigiditatea moleculei are ca efect o creştere a fluorescenţei acesteia, reducând amplitudinea vibraţiilor care de fapt determină tranziţiile neradiative. De exemplu, fluoresceina şi eozina sunt puternic fluorescente dar un compus asemănător, fenolftaleina, care nu are o structură rigidă şi pentru care sistemul conjugat este întrerupt, nu este fluorescentă.

Formarea chelaţilor cu ionii metalici determină frecvent apariţia fenomenului de fluorescenţă deoarece creşte rigiditatea moleculei şi micşorează vibraţiile interne.

Factorii de mediu cei mai importanţi care determină fluorescenţa sunt: pH-ul, temperatura, ionii metalici şi oxigenul dizolvat. Pentru a obţine bune rezultate în determinările de fluorescenţă trebuie utilizaţi solvenţi foarte puri. pH-ul influenţează fluorescenţa prin schimbările mari pe care le poate produce în structura anumitor molecule în urma unor fenomene de disociere sau protonare. Oxigenul molecular dizolvat precum şi unii ioni metalici pot determina fenomenul de stingere a fluorescenţei.

Scăderea temperaturii determină de obicei o creştere a intensităţii fluorescenţei. Aceasta deoarece procesele competitive neradiative (prin care se pierde energia stării excitate) decurg cu o viteză mai mică la temperaturi coborâte.

1.8.4. Analiza cantitativă

Metodele fluorimetrice îşi găsesc aplicaţii deosebite în analiza biochimică, în cercetări biomedicale şi pentru analizele chimice obişnuite ale unor probe de origine biologică. Aceste metode prezintă avantajul că pot fi aplicate frecvent fără o separare prealabilă a compuşilor analizaţi din matricea în care se găsesc (separare care poate fi destul de dificilă).

De asemenea, metodele fluorimetrice pot fi utilizate cu rezultate foarte bune pentru cercetarea proceselor celulare la nivel molecular ca şi în studiul compuşilor activi biologic, ca acizii nucleici sau în studiul structurii şi funcţiilor proteinelor.

Un mare număr de compuşi de interes biochimic pot fi determinaţi fluorimetric, cum ar fi: aminoacizi, vitamine, steroizi, clorofile, medicamente, droguri etc. Metoda se aplică şi la determinarea unor insecticide, poluanţi şi a altor compuşi organici.

Unii compuşi prezintă o fluorescenţă proprie şi pot fi determinaţi direct, alţii, care nu prezintă fluorescenţă, pot fi transformaţi folosind reactivi adecvaţi, în compuşi fluorescenţi. În acest mod pot fi analizaţi numeroşi ioni metalici pe baza unor compuşi fluorescenţi pe care îi formează.

Aminoacizi ca: fenilalanina, tirozina şi triptofanul prezintă fluorescenţă proprie ce permite determinarea lor directă. În fig. 1.56 se prezintă spectrele de absorbţie, de fluorescenţă şi fosforescenţă ale triptofanului.

Unele vitamine, ca de exemplu vitamina A, pot fi determinate fluorimetric direct, la concentraţii de ordinul ppm şi fracţiuni de ppm.

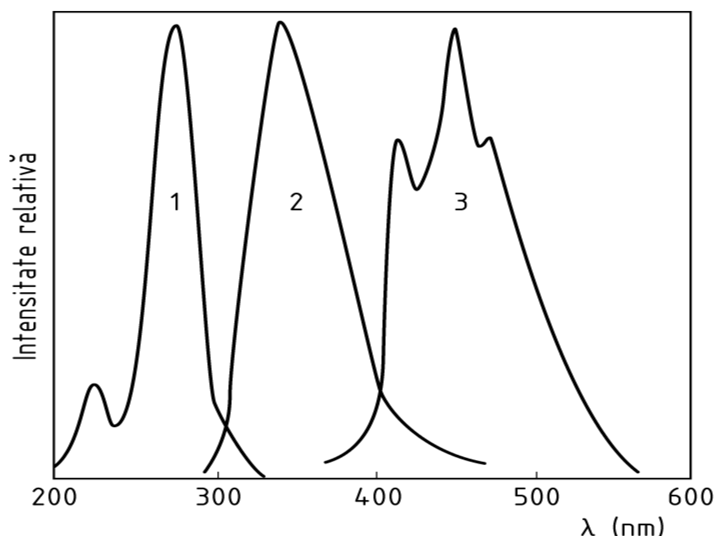
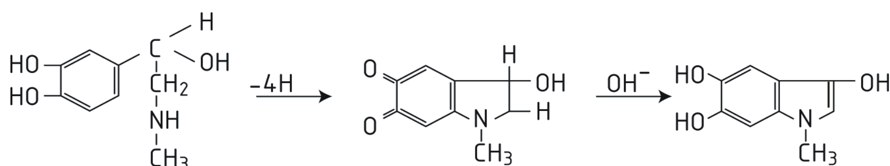


Fig. 1.56. Spectrele de absorbţie (1), de fluorescenţă (2) şi de fosforescenţă (3) ale triptofanului

Alte vitamine, ca de exemplu vitamina A şi riboflavina, ce nu prezintă fluorescenţă proprie, pot fi convertite la fluorofori (compuşi ce prezintă fluorescenţă intensă) printr-o reacţie simplă, ceea ce permite determinarea lor cu o mai mare sensibilitate. Astfel,

Tiamina → Tiocrom ($\lambda_{ex.}$ = 368 nm; $\lambda_{em.}$ = 440 nm)
Riboflavina → Lumiflavina ($\lambda_{ex.}$ = 440 nm; $\lambda_{em.}$ = 550 nm)

Adrenalina poate fi determinată fluorimetric prin formarea unui fluorofor derivat de la indoxil:



Colesterolul, prin tratare cu acid sulfuric, formează un fluorofor ce permite determinarea lui în cantităţi de 0,1-2 μg ($\lambda_{ex.}$ = 546 nm; $\lambda_{em.}$ = 590 nm) [4].

Multe purine, pirimidine şi coenzime pot fi determinate fluorimetric, prezentând fluorescenţă proprie [5]. În fig. 1.57 se prezintă spectrele de fluorescenţă ale adeninei şi ale nucleozidelor şi nucleotidelor sale:

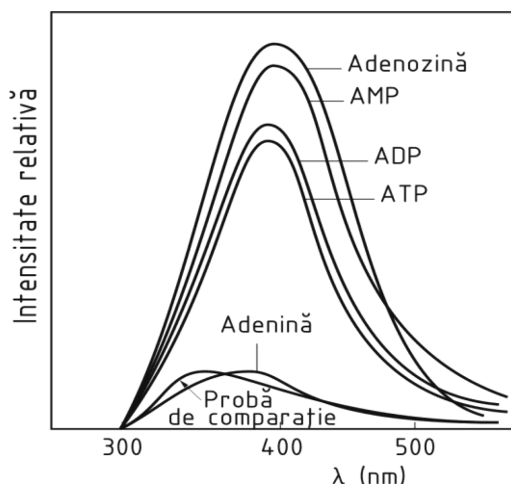


Fig. 1.57. Spectrele de fluorescenţă ale adeninei şi ale nucleozidelor şi nucleotidelor sale în 7N H_2SO_4. Excitarea s-a făcut la 265 nm. Concentraţiile sunt în toate cazurile de 5 μg/mL.

Porfirinele sunt printre compuşii naturali ce prezintă cea mai intensă

fluorescenţă. Porfirinele sunt excitate în vizibil şi emit radiaţii de fluorescenţă la lungimi de undă mari ale spectrului vizibil şi în IR. Din cadrul porfirinelor naturale fac parte hemoglobina, mioglobina, citocromii, clorofilele precum şi alţi pigmenţi.

Fluorescenţa a fost folosită cu rezultate foarte bune pentru determinarea mecanismului fotosintezei, deoarece diferitele clorofile: a, b, c, d etc., protoclorofila şi alţi produşi implicaţi în fotosinteză sunt fluorescenţi la anumite lungimi de undă.

Metodele fluorimetrice sunt aplicate la analiza unor medicamente sau droguri (tabelul 1.8).

Datorită sensibilităţii şi specificităţii, metodele fluorimetrice îşi găsesc largi aplicaţii în enzimologie. Pentru determinarea activităţii unei enzime, se măsoară fluorimetric viteza reacţiei catalizate de aceasta. De exemplu, NADH şi NADPH, formele reduse ale nicotinamidadenin dinucleotidului (NAD^+) şi nicotinamidadenin dinucleotidfosfatului ($NADP^+$), au o fluorescenţă intensă. Astfel, toate reacţiile depinzând de NAD^+ şi $NADP^+$ implicate în analiza enzimatică pot fi studiate fluorimetric. Sensibilitatea este însă cu două-trei ordine de mărime mai mare decât în cazul metodelor de analiză bazate pe absorbţia radiaţiei.

Tabelul 1.8. Metode fluorimetrice pentru determinarea unor medicamente şi droguri.

Substanţa	**Condiţii de lucru**	$\lambda_{ex.}$	$\lambda_{em.}$	**Sensibilitate (ppm)**
Actinomicin D	H_2O_2 - HO^-	370	420	0,10
Antimicin	pH = 1	285	355	0,10
Aspirină	$CHCl_3$ – HOAc	280	335	0,01
Codeină	pH = 1	285	350	0,10
Estrogeni	pH = 13	490	546	0,10
LSD	pH = 7	325	365	0,002
Morfină	Fericianură	250	440	0,10
Fenobarbital	pH = 13	265	440	0,50
Procaină	pH = 11	275	345	0,01
Chinină	pH = 1	350	450	0,002
Tetraciclină	pH = 11	390	515	0,02

Dehidrogenazele, o importantă clasă de enzime care efectuează

dehidrogenarea hidroxicompuşilor în prezenţa unui acceptor de hidrogen, pot fi determinate fluorimetric. Se măsoară viteza iniţială de formare sau de descompunere a NADH şi aceasta este corelată cu concentraţia dehidrogenazei, substratului sau coenzimei.

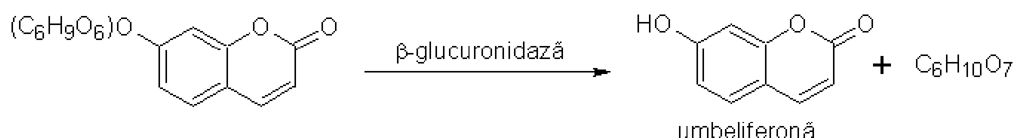
De exemplu, lactatul este transformat în piruvat la pH = 9 de către lactat dehidrogenaza (LDH) în prezenţă de NAD^+. Reacţia inversă se efectuează la pH = 7.



Viteza de formare a NADH la pH = 9 sau viteza de dispariţie a acestei substanţe la pH = 7 este funcţie de activitatea lactat dehidrogenazei, NAD^+ (sau NADH) şi a substratului.

Colinesteraza poate fi determinată specific prin acţiunea sa asupra unor substraturi nefluorescente cum ar fi butirat de rezorufină şi acetat de indoxil, care sunt hidrolizate la compuşii intens fluorescenţi: rezorufina şi indoxilul.

β-glucuronidaza poate fi determinată pe baza reacţiei de descompunere a glucuronidelor [6]:



Umbeliferona formată prezintă fluorescenţă intensă.

Metodele fluorimetrice sunt utilizate pentru determinarea unui mare număr de ioni metalici, după transformarea lor în chelaţi ce prezintă fluorescenţă. Câteva din aceste metode sunt prezentate în tabelul 1.9. Unele din acestea sunt cele mai sensibile şi selective metode analitice pentru determinarea ionilor respectivi.

Metodele fosforimetrice sunt utilizate pentru analiza unor aminoacizi, proteine, acizi nucleici, nucleotide, nucleozide, purine, pirimide, enzime, medicamente, poluanţi, pesticide etc.

Se poate spune că metodele fosforimetrice sunt mai selective decât metodele fluorimetrice de analiză (aceasta deoarece mai puţine substanţe prezintă fosforescenţă). În ceea ce priveşte sensibilitatea, aceasta este asemănătoare cu a metodelor fluorimetrice.

Tabelul 1.9. Metode fluorimetrice pentru determinarea unor elemente.

Elementul	Reactiv	Sensibilitate (ppm)
Al	Saliciliden-*o*-aminofenol	0,0003
Au	Rodamină B	0,02
B	Dibenzoil metan	0,0005
Ca	Calceină	0,20
Cr	Triazinilstilbexonă	0,004
Mg	8-hidroxichinolină	0,01
Mo	Acid carminic	0,9
Zn	2,2'-metilen dibenzotiazol	0,002

Avantajele şi dezavantajele metodelor fluorimetrice de analiză

Metodele fluorimetrice de analiză prezintă o foarte bună sensibilitate şi selectivitate. Pot fi determinaţi compuşi chiar la concentraţii de 10^{-10} g/mL, ceea ce corespunde unei sensibilităţi de 1000 ori mai mare decât cea a celor mai multe metode bazate pe absorbţia moleculară.

Aceasta se poate explica în primul rând pe baza faptului că în cazul metodelor fluorimetrice se măsoară direct radiaţia emisă, lucru destul de uşor de realizat, deoarece există o diferenţă între lungimea de undă a radiaţiei excitatoare şi cea de fluorescenţă. În principiu, este totdeauna mai uşor şi mai precis să se măsoare direct un semnal mic decât o diferenţă (sau un raport) între două semnale mari, aşa cum se face în spectrometria de absorbţie moleculară (unde se măsoară raportul între intensitatea radiaţiei incidente şi cea transmisă).

Specificitatea metodelor fluorimetrice de analiză faţă de cele bazate pe absorbţia radiaţiei, se poate explica astfel: sunt mai puţini compuşi fluorescenţi decât cei care absorb radiaţii, în plus, compuşii fluorescenţi care absorb radiaţii de aceleaşi lungimi de undă este probabil să emită radiaţii la lungimi de undă diferite, putând fi determinaţi selectiv. Diferenţele între lungimile de undă ale radiaţiilor excitatoare şi de fluorescenţă sunt cuprinse între (aproximativ) 10-280 nm.

Pot fi determinate substanţe care prezintă fluorescenţă ca atare, substanţe ce pot fi convertite la compuşi fluorescenţi sau cele care pot determina stingerea fluorescenţei.

Principalul dezavantaj al metodelor fluorimetrice de analiză îl constituie influenţa importantă a condiţiilor experimentale asupra determinărilor: temperatură, pH, tărie ionică, solvent, care trebuie menţinute constante. De asemenea, radiaţia excitatoare (din domeniul UV) poate produce descompuneri

fotochimice.

Metodele fluorimetrice nu sunt indicate pentru determinarea unor constituenţi majori ai probelor, deoarece la concentraţii mari exactitatea este destul de redusă. Frecvent poate să apară fenomenul de stingere a fluorescenţei, datorită temperaturii, oxigenului dizolvat, prezenţei unor impurităţi etc.

1.9. SPECTROMETRIA DE ABSORBŢIE ÎN INFRAROŞU ŞI RAMAN

Domeniul IR cuprinde radiaţiile între 0,8 μm şi 200 μm, sau, în numere de undă, între 12500 cm^{-1} şi 50 cm^{-1}. Regiunea cea mai utilă din punct de vedere analitic este cuprinsă între 3600 cm^{-1} şi aproximativ 300 cm^{-1} (2,8-33 μm). Între 12500 cm^{-1} şi 4000 cm^{-1} este domeniul IR apropiat, iar între aproximativ 4000 cm^{-1} şi 650 cm^{-1} (400 cm^{-1} după unii autori) este domeniul IR mediu. Domeniul IR îndepărtat este cuprins între 650 cm^{-1} (400 cm^{-1}) şi 50 cm^{-1} (200 μm) şi nu este utilizat decât în mică masură în scopuri analitice. Sub 50 cm^{-1} radiaţiile aparţin domeniului microundelor.

Spectrul de absorbţie în IR este un spectru de benzi care se datoresc unor tranziţii între stări energetice de vibraţie ale atomilor care constituie moleculele, peste care se suprapun tranziţii între stări energetice de rotaţie. Principiile teoretice ale absorbţiei radiaţiei în IR au fost prezentate în capitolul 1.1.4.1.

Cea mai importantă utilizare a spectrometriei de absorbţie în infraroşu este la identificarea şi la determinarea structurii unor compuşi. Această metodă se aplică şi pentru determinări cantitative, însă în mai mică măsură.

Pentru trasarea unui spectru în infraroşu, de mare importanţă este pregătirea probelor pentru analiză.

1.9.1. Pregătirea probelor în vederea înregistrării spectrului în IR

Probleme deosebite se pun în privinţa materialului din care sunt confecţionate ferestrele celulelor în care se introduc probele. Nu există un material care să fie transparent şi totodată inert pentru întreg domeniul IR. Se utilizează pe scară largă halogenurile alcaline dar acestea îşi pierd uşor transparenţa în prezenţă de mici cantităţi de apă. Pentru probe ce conţin apă se pot întrebuinţa ferestre de siliciu, germaniu, clorură de argint etc., care însă sunt mult mai scumpe, prezentând şi alte inconveniente. Teflonul are un număr redus de benzi de

absorbţie datorate numai vibraţiei legăturilor C-C şi C-F. El poate fi utilizat cu bune rezultate pentru obţinerea ferestrelor, dacă proba nu are benzi de absorbţie în zonele în care absoarbe acesta. Pentru $\tilde{\nu}$ < 600 cm^{-1} se poate utiliza o celulă de polietilenă. În tabelul 1.9 se prezintă domeniile de lungimi de undă în care diverse materiale sunt transparente în IR:

Tabelul 1.10. Domeniul de transparenţă în IR al unor materiale.

Materialul	**Domeniul de lungimi de undă, λ, μm**	**Domeniul de numere de undă, $\tilde{\nu}$, cm^{-1}**
NaCl	0,5-16	20000-625
KBr	0,25-25	40000-400
AgCl	0,4-23	25000-435
CaF_2	0,15-9	6670-1110
CsBr	1-37	10000-270
CsI	1-50	10000-200 (180)
KRS-5 (T1Br-T1I)	0,5-35	20000-286
Ge	0,5-11,5	20000-870
Si	0,2-6,2	50000-1613
Al_2O_3, safir	0,2-6,5	50000-1538
polietilenă	16-300	625-33

Dacă proba de analizat este lichidă la temperatura obişnuită trasarea spectrului se face utilizând proba ca atare sau o soluţie a acesteia. Concentraţia probei şi grosimea de strat trebuie astfel alese încât transmitanţa să fie cuprinsă între 15 şi 70%.

La utilizarea probelor nediluate este necesară o grosime de strat foarte mică, 0,001-0,05 mm. Frecvent, drept solvenţi pentru probă se întrebuinţează CCl_4 pentru domeniul 4000-1333 cm^{-1} şi CS_2 pentru domeniul 1333-650 cm^{-1}, cei doi solvenţi fiind complementari în cele două domenii spectrale. Probele insolubile în aceşti solvenţi se pot dizolva în acetonă, acetonitril, clorură de metilen, cloroform, ciclohexan etc., care sunt transparenţi în anumite domenii ale spectrului.

Solventul poate influenţa spectrul IR al substanţei dizolvate. O atenţie deosebită trebuie acordată atunci când se pot forma legături de hidrogen. Legăturile de hidrogen, prin grupările –OH sau –NH– alterând frecvenţele caracteristice de vibraţie ale acestor grupări, cu cât sunt mai puternice legăturile de hidrogen, cu atât scade frecvenţa fundamentală de vibraţie.

Aparatele cu dublu fascicul permit compensarea benzilor de absorbţie ale solventului, dar transmitanţa acestuia nu trebuie să scadă sub 10%, la grosimea de strat respectivă.

În cazul unor determinări cantitative ale compuşilor, se lucrează cu celule etanşe cu grosimea fixă de strat, în care se introduc probele prin injectare. S-au realizat şi celule cu grosime de strat variabilă, ce poate fi reglată continuu între

0,005-5 mm cu ajutorul unui şurub micrometric.

Probelor solide li se poate trasa spectrul fie după dizolvare într-un solvent adecvat, fie în următoarele moduri:

- se obţine o pastă din proba fin mojarată şi un mediu lichid cum ar fi ulei de parafină (nujol), hexaclorobutadienă, perfluorokerosen. Pasta se întinde pe o fereastră transparentă şi i se trasează spectrul. Mediile lichide utilizate având un număr redus de benzi de absorbţie, deseori nu îngreunează interpretarea spectrului de absorbţie al probei. Metoda este rapidă, dar este indicată în special pentru o analiză calitativă.
- proba fin mojarată este amestecată cu pulbere de bromură de potasiu (sau altă halogenură alcalină) şi este presată la vid până când se obţine o pastilă transparentă, pentru care este trasat spectrul. Prin această metodă se pot efectua uşor analize cantitative deoarece se pot determina cu precizie cantităţile de probă şi eventual de standard intern introduse într-o pastilă.

Pentru analiza gazelor se întrebuinţează celule cu grosime mare (10 cm). Pentru determinarea unor componenţi în cantitate mică drumul radiaţiei prin celulă poate fi multiplicat utilizând un sistem de oglinzi, drumul efectiv parcurs de fasciculul de radiaţii putând ajunge la zeci de metri.

Deoarece spectrul de absorbţie pentru aceeaşi substanţă poate fi diferit funcţie de modul în care a fost pregătită proba şi de parametrii de lucru ai aparatului, este necesar ca aceste date să fie totdeauna menţionate.

1.9.2. Corelarea spectrelor în IR cu structura moleculară

Spectrul de absorbţie al unui compus în domeniul IR constă, în principiu, din benzile de absorbţie caracteristice ale grupărilor de atomi ce constituie molecula acestuia. Totuşi, deoarece molecula vibrează ca un întreg, au loc interacţii între diferitele grupări de atomi ce vibrează, ceea ce conferă o anumită individualitate spectrului fiecărei substanţe.

În domeniul IR apropiat sunt prezente multe benzi de absorbţie corespunzătoare armonicelor, benzilor fundamentale şi benzilor de combinare, asociate deseori atomilor de hidrogen (vibraţii de întindere a grupărilor O-H, N-H, C-H). Regiunea IR apropiat este utilizată frecvent pentru determinări cantitative. Astfel, se poate determina apa din glicerină, hidrazină, freon, acetonă etc.

Domeniul infraroşu mediu, cuprins între 4000-650 cm^{-1} este constituit din regiunea frecvenţelor de grup 4000-1300 cm^{-1} (2,5-7,7 μm) şi regiunea de "*amprentă*" 1300-650 cm^{-1} (7,7-15,4 μm). În regiunea frecvenţelor de grup, benzile principale de absorbţie pot fi atribuite vibraţiilor unor unităţi constând din doi atomi ai moleculei, unităţi care sunt determinate de grupările funcţionale prezente în moleculă şi nu de întreaga structură moleculară. Totuşi, structura moleculei îşi manifestă influenţa deplasând valorile frecvenţelor de grup de la un compus la altul.

În intervalul 4000-2500 cm^{-1} (2,5-4,0 μm) benzile de absorbţie sunt caracteristice vibraţiilor de întindere ale legăturilor formate de hidrogen cu elemente cu masa ≤ 19.

Regiunea 2500-1540 cm^{-1} (4,0-6,5 μm) corespunde vibraţiei unor legături triple (2500-2000 cm^{-1}) sau duble (2000-1540 cm^{-1}) (C=O, C=C, C=N, S=O).

În regiunea de "*amprentă*" a spectrului (1300-650 cm^{-1}) radiaţia este absorbită datorită vibraţiilor de întindere a unor legături simple şi a vibraţiilor de deformare ale sistemelor poliatomice (vibraţii de schelet). Spectrul de absorbţie în acest domeniu este caracteristic întregii molecule.

În regiunea 667- 50 cm^{-1} (15-200 μm) absorbţia radiaţiei se datorează vibraţiilor de deformare ale legăturilor formate de carbon, azot, oxigen şi fluor cu atomi cu masa mai mare de 19 şi unor moduri suplimentare de deformare a unor sisteme ciclice sau nesaturate. Această regiune este deosebit de indicată pentru studiul unor compuşi organometalici şi anorganici.

În fig. 1.58 se prezintă schematic zonele din spectrul IR în care au loc vibraţiile unor grupări de atomi în moleculă.

Pe baza unui mare număr de spectre înregistrate (câteva mii) Colthup a obţinut grafice de corelare a frecvenţelor de vibraţie cu natura atomilor ce vibrează în cadrul legăturii pentru un număr însemnat de grupări de atomi.

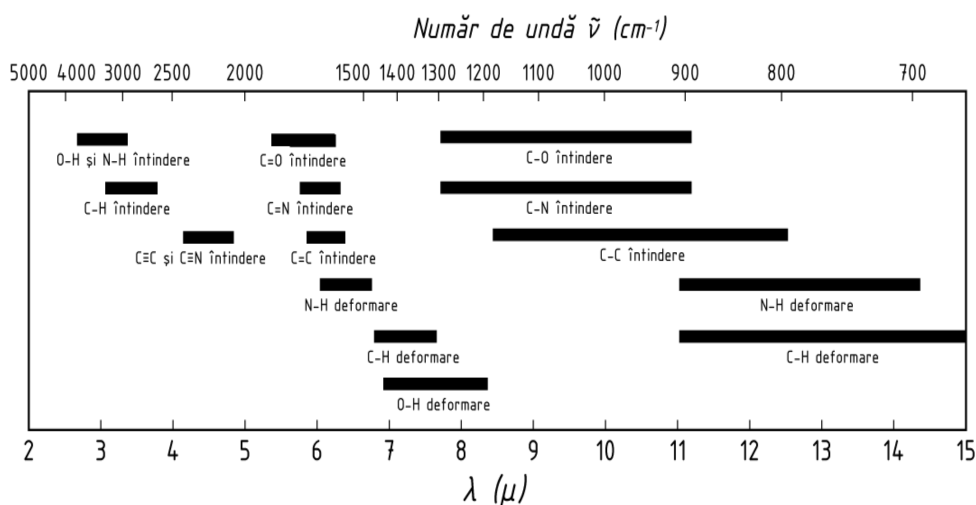


Fig. 1.58. Corelaţii simple ale vibraţiilor de grup cu regiuni ale domeniului IR.

Funcţia graficelor de corelare este de a sugera compuşii şi structurile posibile, pentru investigaţii suplimentare. În cazul unui compus pur, identificarea acestuia va fi făcută prin compararea spectrului său cu spectrele unor compuşi cunoscuţi, spectrul în IR fiind ca o amprentă moleculară unică, uşor de diferenţiat de a altor molecule. Suprapunerea exactă a celor două spectre ne confirmă că substanţa necunoscută este aceeaşi cu compusul pur a cărui structură se cunoaşte.

În acest scop se utilizează colecţii de spectre sau sisteme de refacere a spectrelor. În cazul sistemelor de refacere a spectrelor se foloseşte un aranjament în cod binar, care divide spectrul într-un număr de intervale de lăţime uniformă (de exemplu 0,1 µm sau 100 cm^{-1}). Prezenţa sau absenţa unor benzi de absorbţie, a grupurilor chimice sau alte informaţii pot fi codificate în acest mod. Nu se codifică toate benzile de absorbţie, ci numai cele ce depăşesc o anumită intensitate.

S-au realizat biblioteci de spectre care conţin în memoria unui calculator spectrele în IR a mii sau chiar zeci de mii de compuşi chimici şi care uşurează mult identificarea structurii unor compuşi de analizat.

În cazul unor amestecuri, spectrometria în IR ne permite determinarea grupărilor de atomi prezente în proba de analizat, dar identificaea componenţilor individuali este destul de greu de făcut. În acest scop, datele obţinute prin spectrometria în IR sunt corelate cu date furnizate de analiza chimică, spectrometria de rezonanţă magnetică nucleară, spectrometria de masă etc.

În general, se poate spune că interpretarea unui spectru în IR este destul de dificilă. Deşi unele benzi de absorbţie pot fi imediat corelate cu natura probei, totuşi foarte multe spectre conţin o cantitate de informaţii atât de mare, încât numai o parte din aceasta este utilizabilă chiar de un chimist experimentat.

Faptul că poziţia maximelor de absorbţie caracteristice pentru anumite grupări nu este constantă atunci când acestea sunt prezente în molecule diferite poate fi considerat un dezavantaj. Aceasta face însă ca spectrele de absorbţie în IR să fie unice pentru diferitele molecule şi astfel ele furnizează mai multe informaţii privind structura moleculară decât dacă poziţia maximelor de absorbţie ar fi invariantă.

Un dezavantaj al spectrometriei în IR la aplicarea în biochimie îl constituie faptul că apa prezintă benzi de absorbţie late şi intense în acest domeniu spectral. Foarte multe sisteme naturale au un mare conţinut de apă, ceea ce limitează aplicarea metodei numai la anumite zone spectrale în care apa nu absoarbe.

Au fost obţinute spectrele în IR pentru membrane, ţesuturi, bacterii. Benzile de absorbţie pot fi corelate cu compoziţia sistemului, indicând prezenţa apei, a proteinelor, lipidelor etc. şi este posibil de a diferenţia ţesuturile provenite din diverse surse.

Prin spectrometrie în IR a fost studiată conformaţia unor proteine, polipeptide şi acizi nucleici. Cele mai importante benzi de absorbţie în IR ale legăturii peptidice sunt în jur de 1600 cm^{-1} şi se datoresc în principal întinderii legăturii C=O şi deformării legăturii N-H. Schimbări în structura secundară determină deplasări mici (dar detectabile), variaţii ale intensităţii sau despicarea benzilor care pot sugera structura.

Spectrometria în IR poate fi aplicată pentru studiul structurii secundare a acizilor nucleici, absorbţia de la 1700 cm^{-1} putând fi corelată cu structura secundară a polimerului.

Spectrometria în IR se aplică în biochimie, mai ales pentru analiza unor molecule relativ mici, cum ar fi cele de monozaharide şi derivaţii lor, steroizi,

lipide, baze nucleotidice etc. Pentru aceste molecule, spectrul în IR rămâne suficient de simplu pentru a putea fi utilizat la determinarea structurii.

Analiza prin reflecţie în IR apropiat este aplicată pentru analize clinice deoarece în acest domeniu spectral radiaţia pătrunde în ţesuturile umane suficient de adânc. În acest mod se pot face determinări spectrometrice *in vivo*. Deşi benzile de absorbţie în IR apropiat sunt destul de slabe, ele sunt utile analitic deoarece aproape toate moleculele de interes biologic au benzi de absorbţie distincte în acest domeniu. Aparatura modernă permite măsurarea unor absorbanţe foarte slabe faţă de un fond de radiaţii împrăştiate foarte mare, iar prin utilizarea unor tehnici statistice pot fi interpretate benzile multiple care se suprapun.

1.9.3. Spectrometria Raman

Efectul Raman este aplicat pentru elucidarea structurii unor molecule, pentru identificarea unor grupări funcţionale sau legături chimice şi pentru analiza cantitativă a unor amestecuri complexe.

Spectrul Raman apare în urma unor tranziţii între stări energetice de vibraţie ale moleculelor, însă într-un mod cu totul diferit faţă de spectrul în IR (capitolul 1.1.4.3.). Aceasta face ca spectrometria Raman şi spectrometria de absorbţie în IR să fie tehnici complementare.

La înregistrarea unui spectru Raman este important ca radiaţia difuzată prin efect Rayleigh să fie îndepărtată în cât mai mare măsură. Radiaţiile obţinute prin efect Raman fiind foarte slabe, acestea sunt măsurate la un unghi de 90^o faţă de radiaţia excitatoare (fig. 1.59). În acest fel, radiaţia excitatoare nu ajunge direct la detector şi perturbă determinările.

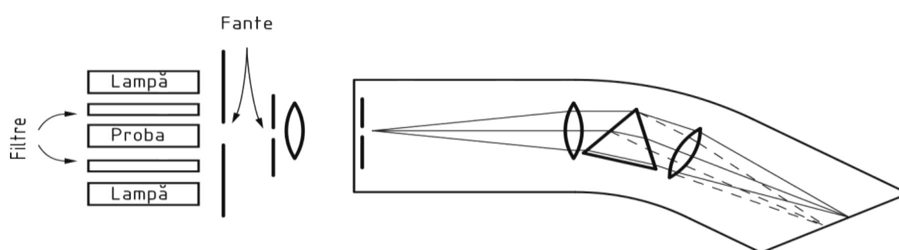


Fig. 1.59. Schema unui spectrometru Raman.

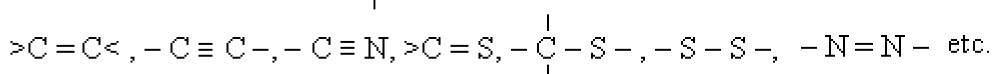
Pentru studierea efectului Raman se folosesc surse de radiaţii intense, de exemplu lămpi cu vapori de mercur. Proba de analizat este conţinută într-un tub de sticlă prevăzut cu o fereastră transparentă. Între tubul ce conţine proba şi lampa de mercur se găseşte un filtru ce permite trecerea radiaţiilor de o anumită lungime de undă, de exemplu 435,8 nm.

Rezultate mult mai bune se obţin utilizând drept sursă de excitare un fascicul laser (de exemplu un laser He-Ne) care furnizează o radiaţie monocromatică foarte intensă.

Drept detector de radiaţii poate fi utilizată o placă fotografică, însă în spectrometrele moderne ea a fost aproape total înlocuită cu detectori fotoelectrici.

Spectrul Raman se obţine cel mai bine pentru probe lichide. Utilizarea laserului ca sursă de excitare permite însă obţinerea spectrului Raman pentru aproape orice stare a probei: lichidă, soluţie, solid transparent, pulbere, gaz etc. şi cu un volum foarte mic, de domeniul microlitrilor sau chiar nanolitrilor. Utilizarea lămpii cu vapori de mercur drept sursă de excitare necesită volume mult mai mari de probă, de ordinul mililitrilor.

Cele mai intense linii în spectrul Raman corespund vibraţiei unor atomi legaţi prin legături relativ nepolare, cu o distribuţie simetrică a sarcinii. În aceste cazuri, se produc cele mai mari variaţii de polarizabilitate în cursul vibraţiei. Astfel de grupări sunt:



Pentru moleculele care au un centru de simetrie, benzile de absorbţie permise în IR sunt interzise în spectrul Raman şi invers. Pentru moleculele cu elemente de simetrie altele decât centrul de simetrie, anumite benzi pot fi active în Raman, în IR, în ambele sau în nici unul. Pentru moleculele complexe care nu prezintă simetrie, toate modurile normale de vibraţie sunt active atât în spectrul Raman cât şi în IR. În fig. 1.60 se prezintă comparativ spectrele de absorbţie în IR şi Raman ale acidului butiric; spectrul Raman a fost obţinut folosind pentru excitare radiaţia de la 632,8 nm a unui laser He-Ne. Spectrul de absorbţie în IR a fost obţinut în CCl_4 pentru $\tilde{\nu}$ >1330 cm^{-1} şi CS_2 pentru $\tilde{\nu}$ <1330 cm^{-1}. Aceste spectre ne indică clar diferenţele de intensitate ale unor anumite benzi din spectrele IR şi Raman.

Spectrometria Raman are multe avantaje faţă de spectrometria de absorbţie în IR. În primul rând, spectrometria Raman poate fi utilizată pentru a identifica şi analiza molecule care nu absorb în IR ca de exemplu molecule diatomice homonucleare.

Un alt avantaj îl constituie faptul că spectrele Raman pot fi obţinute pentru soluţii apoase, spectrul Raman al apei fiind puţin intens. În IR însă apa absoarbe puternic mascând numeroase benzi de absorbţie ale compuşilor studiaţi. Spectrometria Raman poate fi astfel aplicată la studiul unor compuşi biologici, apa însoţind foarte frecvent aceşti compuşi.

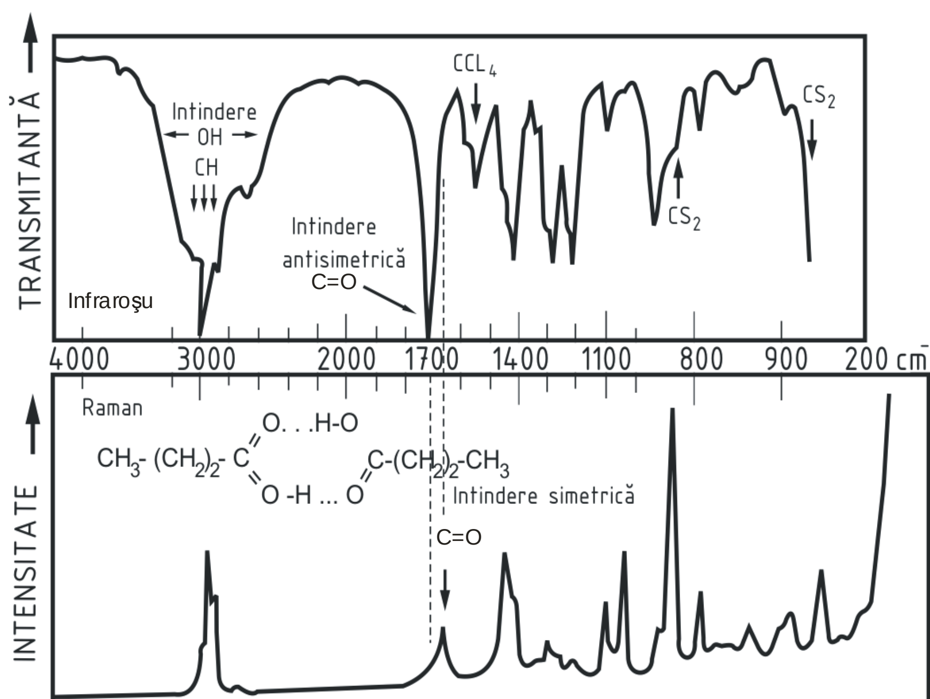


Fig. 1.60. Spectrele de absorbţie în IR şi Raman ale acidului butiric [23].

Spectrometria Raman prezintă însă şi unele inconveniente. De obicei spectrul Raman nu poate fi obţinut pentru o probă care absoarbe radiaţia excitatoare. De asemenea, dacă proba este fluorescentă sau conţine particule în suspensie spectrul Raman va fi mascat de spectrul de fluorescenţă sau de radiaţia difuzată prin efect Tyndall.

Spectrul Raman permite obţinerea unor informaţii privind conformaţia acizilor nucleici şi a proteinelor, precum şi privind interacţiile unor astfel de molecule.

Orice acid nucleic purificat dă 30 sau 40 de benzi Raman în domeniul spectral 300-1700 cm^{-1}. Ele sunt determinate în primul rând de vibraţiile bazei ce intră în compoziţia acidului nucleic. Două benzi intense (la 1100 cm^{-1} şi 810 cm^{-1}) sunt atribuite lanţului principal fosfat-riboză. Banda Raman de la 1100 cm^{-1} este atribuită unei vibraţii de întindere simetrică a legăturii $O = P – O^-$ atât frecvenţa, cât şi intensitatea acestei benzi sunt independente de conformaţia lanţului principal.

Banda Raman de la 810 cm^{-1} corespunde unei conformaţii de tip A. Atunci când lanţul polinucleotidic ia altă conformaţie, această bandă nu se mai găseşte în domeniul 807-814 cm^{-1} şi în acelaşi timp devine mai slabă.

Dubla elice a ARN are o conformaţie a lanţului principal de tip A, dar această conformaţie nu apare neapărat numai în porţiunea cu dublă elice a structurii ARN.

Procentul nucleotidelor ARN în conformaţie A poate fi determinat prin măsurarea intensităţii benzii Raman de la 810 cm^{-1} folosind banda de la 1100 cm^{-1} ca standard intern.

În regiunea corespunzătoare vibraţiilor de întindere a legăturii C = O (1750-1650 cm^{-1}) reziduul de uracil dă două benzi Raman intense. Reziduurile de citozină şi guanină dau două benzi Raman foarte slabe.

În conformaţia dublă elice a ADN sau ARN, reziduurile de bază sunt aranjate cu planurile aproape perpendiculare pe axa elicei şi paralele una cu alta, astfel încât distanţa între planurile adiacente de bază este de 3,4 Å. O astfel de "împachetare" determină o reducere a intensităţii benzii de absorbţie în UV de la 260 nm, având loc de asemenea o micşorare a intensităţii unor benzi Raman corespunzătoare reziduului de bază.

O proteină purificată dă aproximativ 30 benzi Raman intense în regiunea spectrală 300-1700 cm^{-1}. Lanţul principal polipeptidic dă naştere următoarelor benzi: amidă I (1645-1680 cm^{-1}), amidă II (1235-1300 cm^{-1}), întindere C – C (900-960 cm^{-1}). Aceste trei benzi sunt utile pentru estimarea procentului de proteină ce se găseşte sub formă de α-elice, formă β, sau are o orientare întâmplătoare a lanţului peptidic.

Conformaţia de α-elice dă o bandă Raman intensă corespunzătoare amidei I în regiunea 1650-1655 cm^{-1}, o bandă Raman slabă corespunzătoare amidei III în regiunea 1260-1295 cm^{-1} şi o bandă medie corespunzătoare întinderii legăturii C – C în domeniul 900-945 cm^{-1}. Celelalte structuri dau benzi Raman diferite.

Pe lângă efectul Raman obişnuit, în care nu au loc tranziţii între stări energetice electronice ale moleculelor, în anumite condiţii experimentale, poate apărea *efectul Raman de rezonanţă.*

Acest efect constă în trecerea unui electron din starea fundamentală pe un nivel excitat de vibraţie al unei stări electronice excitate, fenomen urmat de o tranziţie pe un nivel de vibraţie al stării electronice fundamentale (fig. 1.61).

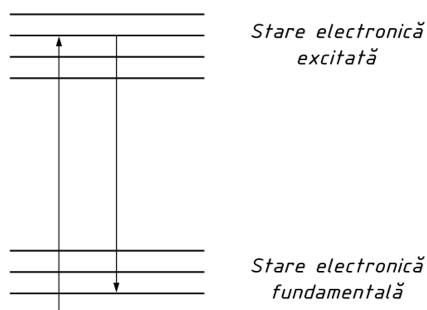


Fig. 1.61. Prezentarea schematică a efectului Raman de rezonanţă.

În cazul efectului Raman de rezonanţă nu are loc o relaxare preliminară pe cel mai coborât nivel de vibraţie al stării electronice excitate, aşa cum se întâmplă

în cazul fluorescenţei. Emisia radiaţiei este instantanee iar spectrul obţinut este sub forma unor benzi înguste.

Pentru a obţine spectrul Raman de rezonanţă se foloseşte o radiaţie laser a cărei frecvenţă este egală sau apropiată de frecvenţa corespunzătoare unei tranziţii electronice.

Avantajul efectului Raman de rezonanţă constă în marea sensibilitate şi selectivitate cu care poate fi studiată structura cromoforilor. Liniile Raman de rezonanţă pot avea intensităţi de 10^2-10^6 ori mai mari decât liniile Raman obişnuite, iar spectrul obţinut este mai simplu, deoarece sunt intensificate numai liniile corespunzătoare vibraţiilor cromoforilor. Se pot obţine astfel informaţii detaliate privind modurile de vibraţie ale cromoforilor ce au benzi de absorbţie în apropierea lungimii de undă a radiaţiei excitatoare. Această selectivitate apare, de exemplu, în cazul proteinelor hemului, unde benzile Raman de rezonanţă se datoresc numai vibraţiilor cromoforului tetrapirolic.